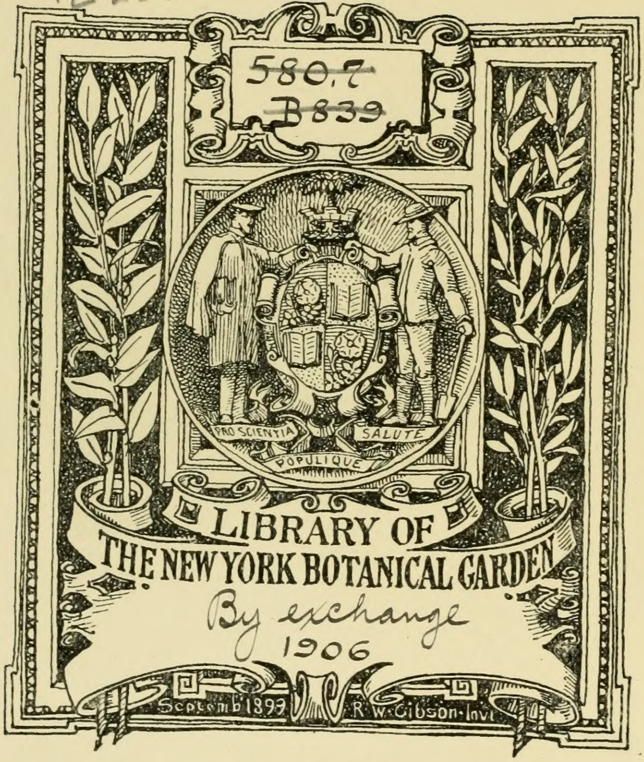
SHOUT
SHARE
IT

XR
.E255

Tome 2.


PRO SCIENTIA
POPULIQUE
SALUTE
Septemb 1899
R W Gibson Invt

~~580.7~~
~~B839~~

LIBRARY OF
THE NEW YORK BOTANICAL GARDEN
By exchange
1906

580.1
B83

RECUEIL

DE

L'INSTITUT BOTANIQUE

(UNIVERSITÉ DE BRUXELLES)

PUBLIÉ PAR

L. ERRERA

TOME II

AVEC TROIS FIGURES DANS LE TEXTE ET QUATRE PLANCHES

CYCLE DE L'AZOTE.
NOTES DE TECHNIQUE MICROSCOPIQUE ET BACTÉRIOLOGIQUE.
ALCALOÏDES ET MATIÈRES PROTÉIQUES.

BRUXELLES
HENRI LAMERTIN, ÉDITEUR-LIBRAIRE
20, RUE DU MARCHÉ AU BOIS, 20

1906

RECUEIL

DE

L'INSTITUT BOTANIQUE

RECUEIL
DE
L'INSTITUT BOTANIQUE
(UNIVERSITÉ DE BRUXELLES)

PUBLIÉ PAR

L. ERRERA

TOME II
AVEC TROIS FIGURES DANS LE TEXTE ET QUATRE PLANCHES

CYCLE DE L'AZOTE.
NOTES DE TECHNIQUE MICROSCOPIQUE ET BACTÉRIOLOGIQUE.
ALCALOÏDES ET MATIÈRES PROTÉIQUES.

LIBRARY
NEW YORK
BOTANICAL
GARDEN.

BRUXELLES
HENRI LAMERTIN, ÉDITEUR-LIBRAIRE
20, RUE DU MARCHÉ AU BOIS, 20

1906

HAYEZ, IMPRIMEUR DES ACADÉMIES ROYALES, BRUXELLES

TABLE DES MATIÈRES

DU TOME II

LIBRARY
NEW YORK
BOTANICAL
GARDEN.

Pages.

ÉMILE LAURENT, *Recherches sur la valeur comparée des nitrates et des sels ammoniacaux comme aliment de la Levure de bière et de quelques autres plantes* 1

(*Annales de l'Institut Pasteur*, t. III, p. 362, 1889.)

Penicillium glaucum 2
Aspergillus glaucus. 3
Aspergillus niger 4
Oidium lactis 5
Mycolevure. 5

ÉMILE LAURENT, *Action comparée des nitrates et des sels ammoniacaux sur la Levure* 11

(*Annales de la Société belge de microscopie* [Mémoires], t. XIV, 1890.)

CONCLUSIONS 17

ÉMILE LAURENT, *Expériences sur la production des nodosités chez le Pois à la suite d'inoculations* 19

(*Bulletin de l'Académie royale de Belgique*, 3ᵉ série, vol. XIX, p. 764, juin 1890.)

Explication de la planche 26

ÉMILE LAURENT, *Réduction des nitrates par la lumière solaire* 27

(*Bulletin de l'Académie royale de Belgique*, 3ᵉ série, t. XX, nº 8, pp. 303-308, 1890.)

ÉMILE LAURENT, *Sur la réduction des nitrates par la Levure de bière et par quelques moisissures* 33

(*Bulletin de l'Académie royale de Belgique*, 3ᵉ série, t. XX, nº 8, pp. 309-317, 1890.)

Apr 4 - 1907

Pages.

ÉMILE LAURENT, *La réduction des nitrates en nitrites par les graines et les tubercules* 41

(*Bulletin de l'Académie royale de Belgique,* 3e série, t. XX, no 11, pp. 478-485, 1890.)

ÉMILE LAURENT, *Réduction des nitrates par la lumière solaire* 47

(*Bulletin de l'Académie royale de Belgique,* 3e série, t. XXI, no 3, pp. 337-345, 1891.)

ÉMILE MARCHAL, *De l'action des moisissures sur l'albumine.* 55

(*Bulletin de la Société belge de microscopie,* t. XIX, 1893.)

ÉMILE MARCHAL, *Sur la production de l'ammoniaque dans le sol par les microbes* 61

(*Bulletin de l'Académie royale de Belgique,* 3e série, t. XXV, no 6, pp 727-771, 1893.)

Caractères morphologiques du bacille mycoïde 74
- Bacillus mycoïdes 74
- Caractères microscopiques 74
- Caractères macroscopiques. Culture sur plaques de gélatine . . 74
- Culture par piqûre sur gélatine 75
- Culture sur agar en surface 76
- Culture sur sérum 76
- Culture sur pomme de terre 76
- Culture en bouillon 76
- Dispersion 77
- Action du bacille mycoïde sur l'albumine 78
- Mécanisme du phénomène 79
- Influence de la température 83
- Influence de l'aération 85
- Influence de la réaction du milieu 86
- Influence de la concentration des solutions 89

Action du bacille mycoïde sur les différentes substances azotées . . . 90
- Substances albuminoïdes 90
- Substances azotées non albuminoïdes 92

Pages.

Nitrates 93

Action du bacille mycoïde sur les hydrates de carbone 95

Conclusions 96

Léo ERRERA, *Coloration des noyaux par la nigrosine* . . . 99

(*Bulletin de la Société belge de microscopie*, t. VII, n° 8, 1881.)

Léo ERRERA, *Sur l'emploi de la canarine* 101

(*Bulletin de la Société belge de microscopie*, t. X, n° 11, 1884.)

Léo ERRERA, Notes de technique microscopique du Laboratoire d'anatomie et de physiologie végétales de l'Université de Bruxelles.

I. — *Sur l'emploi de l'encre de Chine en microscopie* . . 103

(*Bulletin de la Société belge de microscopie*, t. X, n° 11, 26 juillet 1884.)

II. — *Deux questions de terminologie* 107

(*Bulletin de la Société belge de microscopie*, t. X, n° 12, 12 octobre 1884.)

III. — *Comment l'alcool chasse-t-il les bulles d'air?* . . . 111

(*Bulletin de la Société belge de microscopie*, t. XIII, n° 3, 22 décembre 1886.)

G. CLAUTRIAU, *Sur la variation du point de coagulation des albuminoïdes, avec démonstrations expérimentales* 117

(*Bulletin de la Société belge de microscopie*, t. XVIII, n° 9, 18 juillet 1892.)

Émile MARCHAL, *Sur un procédé de stérilisation à cent degrés des solutions d'albumine* 119

(*Bulletin de l'Académie royale de Belgique*, 3e série, t. XXIV, nos 9-10, pp. 323-327, 1892.)

A. DE WÈVRE, *Recherches sur la technique microchimique des albuminoïdes* 123

(*Bulletin de la Société belge de microscopie*, t. XX, n° 4, 15 janvier 1894.)

Technique microchimique 130

Réactifs précipitants 132

Pages.

Réactifs colorants 136

CONCLUSIONS 145

BIBLIOGRAPHIE. 146

L. ERRERA, MAISTRIAU et G. CLAUTRIAU, *Premières recherches sur la localisation et la signification des alcaloïdes dans les plantes*. (Avec une planche.) 147

(*Journal de la Société royale des sciences médicales et naturelles de Bruxelles*, 1887.)

I. *Sommaire* 147

II. CHAPITRE I^er^. — *Introduction*. Réactifs généraux 149

CHAPITRE II. — *La localisation des alcaloïdes dans les plantes*. . 155

§ 1. *Colchicum autumnale*. 155

§ 2. *Nicotiana macrophylla* 161

§ 3. *Aconitum Napellus* 163

§ 4. *Narcissus* 169

§ 5. *Canna* 175

§ 6. *Veratrum album* 176

§ 7. *Solanum* 176

§ 8. *Strychnos* 176

CHAPITRE III. — *Résultats généraux* 178

§ 1. Topographie des alcaloïdes. 178

§ 2. Physiologie et biologie des alcaloïdes 179

Explication des figures 182

Colchicum autumnale 182

Narcissus rugulosus. 182

LÉO ERRERA, *Some general results on the localisation of alkaloids in plants*. 185

(*Proceedings of the British Association*. Cambridge, 1904.)

Pages.

LÉO ERRERA, Notes de technique microscopique du Laboratoire d'anatomie et de physiologie végétales de l'Université de Bruxelles.

Sur la distinction microchimique des alcaloïdes et des matières protéiques 189

(*Annales de la Société belge de microscopie*, t. XIII, 2ᵉ fasc., p. 73, 1889.)

§ 1. Réactions macrochimiques 190
§ 2. Essais microchimiques sur la colchicine 196
§ 3. Essais microchimiques sur la peptone 200
§ 4. Essais microchimiques sur les zygospores de Mucor . . 204
§ 5. Essais microchimiques sur la Ciguë 219
§ 6. Essais microchimiques sur le Lupin 221
§ 7. CONCLUSIONS 224

A. DE WÈVRE, *Sur l'alcaloïde des Narcisses*. (Note préliminaire.) 229

(*Bulletin de la Société belge de microscopie*, t. XIII, p. 137, 30 avril 1887.)

A. DE WÈVRE, *Localisation de l'atropine* 233

(*Bulletin de la Société belge de microscopie*, t. XIV, p. 19, 29 octobre 1887.)

G. CLAUTRIAU, *Recherches microchimiques sur la localisation des alcaloïdes dans le* Papaver somniferum 237

(*Annales de la Société belge de microscopie*, t. XII, 1889.)

G. CLAUTRIAU, *L'azote dans les capsules de Pavot*. . . . 253

(*Bulletin de la Société belge de microscopie*, t. XVIII, p. 80, 1892.)

G. CLAUTRIAU, *Localisation et signification des alcaloïdes dans quelques graines*. 265

(*Annales de la Société belge de microscopie*, t. XVIII, p. 35, 1894.)

Atropa Belladona. — Datura Stramonium. — Hyoscyamus niger . . 266
Conium maculatum 269

Pages

Aconitum Napellus. — Delphinium Staphisagria 272
Strychnos Nux vomica 273
Lupinus albus 274
Conclusions 280

Ph. MOLLE, *Recherches de microchimie comparée sur la localisation des alcaloïdes dans les Solanacées* 281

(*Mémoires couronnés et autres mémoires* publiés par l'Académie royale de Belgique, t. LIII, 1895.)

Anatomie de *Solanum tuberosum* 285
Méthode de localisation 293
Localisation des alcaloïdes 304
1. *Nicandra physaloïdes* 304
2. *Atropa Belladona* 306
3. *Scopolia japonica* 313
4. *Hyoscyamus niger* 314
5. *Physalis Alkekengi* 316
6. *Solanum tuberosum* 318
7. *Solanum Dulcamara* 323
8. *Datura Stramonium* 325
9. *Nicotiana Tabacum* 327
10. *Petunia violacea* 328
11. *Salpiglossis sinuata* 329
12. *Brunfelsia americana* 330
Les alcaloïdes pendant la germination 331
Topographie générale des alcaloïdes chez les Solanacées 332
Conclusions 333
Explication des figures 335

E. DE WILDEMAN, *Présence et localisation d'un alcaloïde dans quelques Orchidées* 337

(*Bulletin de la Société belge de microscopie*, t. XVIII, 1892.)

Pages

ÉMILE DE DROOG, *Contribution à l'étude de la localisation microchimique des alcaloïdes dans la famille des Orchidacées.* 347

(*Mémoires couronnés et autres mémoires*, publiés par l'Académie royale de Belgique, t. LV, 1896.)

Anatomie des *Dendrobium nobile* 348
Localisation microchimique. 352
Liste des espèces examinées. 354
Orchidacées alcaloïdifères 358
§ 1. *Dendrobium nobile*. 358
§ 2. *Dendrobium Ainsworthii*. 360
§ 3. *Eria stellata* 360
§ 4. *Catasetum tabulare.* — *Catasetum Hookeri.* — *Catasetum macrocarpum.* — *Catasetum Bungerothii.* — *Catasetum discolor* 362
§ 5. *Phalaenopsis Luddemanniana* 364
Résultats généraux 364
Liste des genres d'Orchidacées groupés d'après la classification de Pfitzer. 366
Explication de la planche 373
Dendrobium nobile 373
Catasetum Hookeri 374
Catasetum macrocarpum 374
Phalaenopsis Luddemanniana 374

LÉO ERRERA, *Bibliographie des alcaloïdes, glycosides, tannins, etc.* 374

ALCALOÏDES. 375
I. *Généralités* 375
II. *Localisation dans les Végétaux* 377
Réactions chimiques 377
III. *Signification physiologique*. 382
IV. *Alcaloïdes dans les divers groupes de Végétaux*. 388
Champignons, Lichens, Bactéries 388
Ptéridophytes 390

Pages.
Graminacées 390
Liliiflorales 391
Orchidacées 392
Pipéracées 393
Urticales 393
Ranales 394
Rhéadales 395
Sarracéniales 396
Saxifraginées 397
Léguminées 397
Géraniales 399
Sapindales 399
Malvales 400
Pariétales 400
Opuntiales 401
Ombellacées 401
Primulacées 402
Contortales 402
Borraginacées 403
Solaninées 403
Rubiales 406
Campanulales 407
Glycosides, tannins, etc. 408
Généralités 408
Localisation 409
Signification physiologique 412
Latex et Laticifères 413

RECHERCHES
SUR LA
VALEUR COMPARÉE DES NITRATES ET DES SELS AMMONIACAUX
COMME
ALIMENT DE LA LEVURE DE BIÈRE
ET DE QUELQUES AUTRES PLANTES

PAR

É. LAURENT (¹)

I.

Parmi les substances qui peuvent concourir à l'alimentation azotée des végétaux, il faut citer en première ligne les nitrates et les sels ammoniacaux. On sait que beaucoup de Champignons assimilent sans difficulté les sels ammoniacaux, et que les plantes vertes prospèrent dans des solutions minérales additionnées d'un nitrate. Mais on n'a pas de renseignements précis sur la valeur comparée de ces deux catégories de sels comme aliment des divers groupes végétaux.

Les expériences que l'on aurait pu tenter autrefois dans cette direction, auraient été entachées d'erreur par le fait des microbes, que l'on sait aujourd'hui être la cause de modifications profondes des combinaisons azotées. Il est donc absolument indispensable,

---

(¹) Ce mémoire a paru dans les *Annales de l'Institut Pasteur*, 1889, t. III, p. 362. Nous le reproduisons ici intégralement, sauf le chapitre Ier, qui a été repris et complété dans le travail suivant de Laurent.

dans des travaux de cette nature, d'éviter ces erreurs au moyen de cultures d'une pureté absolue. A ce point de vue, les organismes inférieurs sont sans contredit bien plus commodes que les plantes vasculaires, dont le développement à l'abri des infiniment petits est des plus difficiles à obtenir dans les expériences.

J'ai fait choix pour ces études de la Levure de bière, d'un certain nombre de moisissures très communes, et de quelques plantes vasculaires.

II.

Parmi les résultats fournis par la culture des moisissures dans des solutions nourricières ammoniacales et nitriques, l'un des plus curieux m'a été donné par le *Cladosporium herbarum*.

Comme je l'ai déjà indiqué dans ces *Annales* (1), je me borne à le rappeler. La forme typique préfère les nitrates, tandis que les états réduits (*Dematium* et formes-levures) assimilent mieux le sulfate d'ammoniaque. Ceux-ci, dans la solution nitrique, produisent presque exclusivement des filaments, des cellules analogues à des Levures dominent dans la solution ammoniacale. J'ai fait remarquer que ces différences sont bien dues à la nature de l'engrais azoté, car l'addition du sulfate de sodium à 1 °/₀ ne modifie en rien les résultats.

La culture des moisissures qui suivent a été faite dans des matras coniques à fond plat, sur une couche de liquide nutritif peu épaisse. Elle n'a été interrompue qu'après la production complète des appareils conidifères dans les deux essais à comparer pour chaque espèce.

Voici les résultats pour 20 centimètres cubes de solution minérale avec 2.5 °/₀ de sucre interverti :

Penicillium glaucum. — Au début de ses travaux sur les microbes, M. Pasteur remarqua que cette moisissure, comme la

---

(1) *Annales de l'Institut Pasteur*, t. II, p. 573.

Levure de bière, végète parfaitement dans des solutions minérales auxquelles on ajoute une substance hydrocarbonée et un sel ammoniacal (¹). Le même savant s'assura même que ce sel peut être remplacé par un nitrate.

Dans mes cultures, la croissance a été d'abord plus rapide dans la solution nitrique, mais plus tard cette différence a disparu.

Poids sec de matière vivante produite :

Penicillium glaucum.

Dans la solution ammoniacale	0,217 gr.
— nitrique	0,206 —

Alternaria tenuis.

Dans la solution ammoniacale	0,1075 gr.
— nitrique	0,237 —

Botrytis cinerea.

Dans la solution ammoniacale	0,2265 gr.
— nitrique	0,155 —

Mucor racemosus.

Dans la solution ammoniacale	0,0435 gr.
— nitrique	0,118 —

Aspergillus glaucus.

Dans la solution ammoniacale	0,1885 gr.
— nitrique	0,2005 —

Aspergillus glaucus. — Le mycélium se développe beaucoup plus rapidement dans la solution nitrique ; dans la solution ammoniacale, les filaments sont colorés en jaune, tandis qu'ils sont blanchâtres dans l'autre liquide nutritif. Cette coloration jaune, fré-

---

(¹) *Annales de chimie et de physique*, 3ᵉ sér., t. LXIV, p. 107.

quente chez le *Penicillium glaucum*, existait aussi dans les filaments de *Mucor racemosus* développé à l'intérieur du liquide ammoniacal. Elle est sans doute due à une substance résiduaire de la vie des cellules.

Aspergillus niger. — Grâce aux études de M. Raulin, cette espèce convient admirablement aux recherches les plus variées sur la nutrition des Champignons. Ce savant (¹) avait remarqué, sans y attacher d'importance, que le tartrate d'ammoniaque s'est montré dans ses cultures un peu plus efficace que les nitrates de potassium et d'ammoniaque, pour des quantités équivalentes en azote. Le rapport des poids de plante obtenus comparativement dans les deux cas était de 26 à 20.

Pour éviter l'emploi du nitrate d'ammoniaque, j'avais modifié comme suit la composition du liquide Raulin :

Eau	1500 c. c.
Saccharose	70,00 gr.
Acide tartrique	4,00 —
Phosphate de potassium	0,60 —
Carbonate de potassium	0,60 —
Carbonate de magnésium	0,40 —
Sulfate de zinc	0,07 —
Sulfate de fer	0,07 —
Silicate de potassium	0,07 —

Ce mélange était partagé en deux moitiés : dans l'une j'ai introduit $6^{gr}07$ de nitrate de soude et dans l'autre $4^{gr}71$ de sulfate d'ammoniaque. Par mesure de précaution, je ne fis l'ensemencement qu'avec une très petite quantité de spores.

Dans la solution nitrique, la germination et la croissance du mycélium ont été moins rapides que dans la solution ammoniacale,

---

(¹) *Thèses*, p. 142, 1870.

bien que la température fût très voisine de l'optimum (33 à 35°). La production des appareils conidifères a été également plus tardive.

Trois cultures comparatives ont donné ces résultats :

	I.	II.	III.
Dans la solution ammoniacale. .	9,169 gr.	9,270 gr.	4,311 gr.
— nitrique . . .	6,997 —	7,209 —	3,375 —

Les deux premières séries (I et II) ont été interrompues au septième jour, lorsque le mycélium nourri avec du nitrate avait donné ses spores, il est vrai, peu nombreuses. Les cultures indiquées par le chiffre III furent desséchées à la fin du deuxième jour, avant l'apparition des conidies. Dans les deux cas, la différence est à l'avantage de l'aliment ammoniacal.

Oidium lactis. — Cultivé dans le mélange nutritif employé pour la Levure, il n'a pas donné une végétation bien vigoureuse. Toutefois la préférence de cette Mucédinée pour les sels ammoniacaux est évidente. J'ai constaté aussi une différence provoquée par la nature de l'engrais azoté. Elle est la contre-partie de ce que présente le *Dematium* de *Cladosporium* dans les mêmes conditions; tendance à former des filaments dans la solution ammoniacale et des cellules courtes au contact du nitrate de sodium.

Mycolevure. — Peu d'organismes manifestent une préférence aussi marquée pour les sels ammoniacaux. La Mycolevure ne prospère pas dans le mélange employé pour la Levure de bière, mais croît à merveille dans le liquide Raulin, auquel j'avais apporté la modification indiquée au sujet de l'*Aspergillus niger.* Après quarante-huit heures à 35°, la Mycolevure donnait à la surface de la solution ammoniacale un mycoderme très grimpant le long des parois du matras; dans la solution nitrique, il n'y avait que quelques lambeaux de mycoderme.

On pourrait supposer qu'un organisme qui se nourrit de préférence d'ammoniaque puisse s'habituer graduellement à l'assimilation de l'acide nitrique. Il n'en est pas ainsi, tout au moins pour la Mycolevure. Une culture, dont la semence provenait d'un premier essai dans le mélange avec nitrate, fut faite dans le même milieu. La croissance du microbe fut presque nulle.

Quelles modifications les moisissures que nous venons d'étudier sont-elles capables d'apporter à la substance azotée qui leur sert d'aliment? Aucune n'est capable de déterminer la nitrification du sulfate d'ammoniaque. Je m'en suis assuré avec soin. Par contre, plusieurs réduisent les nitrates en nitrites. Tels sont : le *Cladosporium herbarum* et ses états polymorphes, le *Penicillium glaucum*, l'*Alternaria tenuis* et le *Mucor racemosus*. Je n'ai observé aucun phénomène de réduction avec les *Aspergillus niger* et *glaucus*, ainsi qu'avec le *Botrytis cinerea*.

Comme conclusion des expériences précédentes, il faut admettre que certaines moisissures préfèrent les nitrates comme source d'azote alimentaire, tandis que d'autres assimilent plus facilement les sels ammoniacaux. Il en est aussi qui utilisent d'une manière sensiblement égale ces matières salines.

Dans le genre *Aspergillus*, l'acide nitrique convient mieux à l'*Aspergillus glaucus* et l'ammoniaque à l'*Aspergillus niger*. Il n'y a là rien qui doive nous étonner outre mesure; la sélection naturelle nous explique sans peine ces préférences spécifiques.

III.

Des essais identiques à ceux que je viens de rapporter ont été établis pour quelques plantes de grande culture pendant l'été de l'année 1888. Pour les uns, j'employais du sable très pur auquel je mélangeais la plus grande partie des sels alimentaires avant l'ensemencement; le reste fut distribué plus tard avec les eaux d'arrosement.

Des cultures plus nombreuses furent faites simultanément dans des solutions aqueuses contenant des quantités équivalentes d'azote, sous forme de nitrate de sodium ou de sulfate d'ammoniaque. Voici quel était le mélange employé :

Eau	1000 c. c.
Phosphate tricalcique	0,50 gr.
Sulfate de potassium	0,50 —
— magnésium	0,50 —
— calcium	0,50 —
— fer	0,01 —
Nitrate de sodium	1,00 —
ou sulfate d'ammoniaque	0,77 —

Je m'assurais de temps à autre que les liquides de culture n'étaient pas envahis par les Bactéries, qui auraient pu les altérer et nitrifier le sulfate d'ammoniaque. Lorsque cet accident arrive, et il est plus fréquent dans les solutions ammoniacales, les plantes ne tardent pas à s'en ressentir; leurs racines, privées d'air, entrent bientôt en décomposition. Souvent aussi il y a production de nitrates.

Bien que les nitrates puissent facilement être mis en évidence dans l'intérieur des racines au moyen de la diphénylamine, je n'en ai point observé de traces ni dans le Maïs ni dans l'Avoine. Ces deux espèces sont donc incapables d'opérer la nitrification; les observations analogues de M. Molisch et de M. B. Frank nous permettent de supposer que cette propriété n'existe pas chez les plantes vasculaires, non plus que parmi les moisissures.

Les Pois cultivés dans les deux mélanges ne présentaient pas de différence; leur croissance fut bien supérieure à celle des Pois de la même variété cultivés dans le mélange minéral dépourvu d'azote combiné. J'ai fait la même remarque pour le Haricot nain, mais cette espèce a mieux assimilé le nitrate que le sulfate d'ammoniaque.

L'Avoine et le Maïs furent aussi prospères dans les deux mélanges salins. La seule différence qui m'ait frappé est la ramification fort inégale des racines dans les deux milieux. Elles sont courtes, très divisées dans la solution ammoniacale; au contraire, dans la solution nitrique, les racines sont beaucoup plus longues et pourvues de moins de ramifications. On pouvait très facilement distinguer les plantes de chaque catégorie par l'examen des racines ([1]).

Il semble que nous soyons en présence d'un de ces phénomènes d'adaptation, tels que l'allongement démesuré des racines dans l'eau distillée et dans les terres peu fertiles. C'est un fait bien connu que les nitrates sont facilement entraînés par les eaux dans les couches profondes du sol; les sels ammoniacaux sont, par contre, fixés par la terre et sont plus abondants dans les couches voisines de la surface. La plante serait donc sensible à la distribution de l'aliment azoté dans le milieu extérieur.

Quant aux cultures dans le sable, elles ont donné des résultats assez différents de ceux que je viens d'exposer.

En premier lieu, la germination s'est faite moins bien dans les pots additionnés de sulfate d'ammoniaque, ce que j'attribue à la décomposition de ce sel sous l'action de la chaux mélangée au sable avant l'ensemencement.

Beaucoup de graines, surtout les plus riches en réserves amylacées, furent complètement détruites par la pourriture.

Plus tard, la croissance a été plus belle dans les pots avec nitrates; les tiges étaient plus robustes, les plantes (Froment et Avoine) ont mieux tallé. Néanmoins, la comparaison des pieds cultivés dans le sable avec sulfate d'ammoniaque avec des pieds cultivés sans engrais azoté, prouvait suffisamment l'assimilation de l'ammoniaque. Des essais avec la diphénylamine et la brucine, faits de temps en temps, m'assuraient que le sable de culture n'avait pas été le siège de phénomènes de nitrification.

La maturation a été plus tardive avec le sulfate d'ammoniaque : la différence était de deux semaines à l'avantage des plantes nourries avec du nitrate de sodium.

([1]) Hampe (*Landw. Versuchstationen*, t. IX, p. 157, 1867) avait réussi à cultiver le Maïs dans une solution ammoniacale. Au contraire, Birner et Lucanus (*Landw. Versuchstationen*, t. VIII, p. 148, 1866) n'avaient pas vu l'Avoine prospérer dans les mêmes conditions.

Des cultures de *Lolium perenne* dans le sable m'ont montré que cette Graminée peut aussi assimiler directement les sels ammoniacaux ; cependant elle croît avec plus de vigueur lorsqu'on lui donne un nitrate.

En résumé, ces essais de culture prouvent que les plantes supérieures peuvent, à la rigueur, assimiler les sels ammoniacaux. Mais dans la pratique agricole, les nitrates ont une influence plus régulière et plus manifeste, parce que les phénomènes de la nutrition azotée des végétaux terrestres se compliquent d'actions multiples qui se passent dans le sol.

Les faits précédents peuvent-ils nous conduire à quelque conception générale sur l'assimilation de l'azote chez les végétaux?

On ne peut mettre en doute que les combinaisons ammoniacales constituent des aliments assimilables par les plantes les plus diverses, sinon pour tous les végétaux. C'est un fait absolument certain pour les Bactéries (1), les Levures, les moisissures et les plantes vasculaires, dont un grand nombre d'ailleurs, comme les espèces des terrains marécageux et acides, ne trouvent guère de nitrates au voisinage de leurs racines.

Les nitrates ne conviennent guère aux Bactéries ni aux Levures ; ils sont moins favorables que les sels ammoniacaux à certaines moisissures. Quelques-uns de ces Champignons, le mycélium de l'Agaric comestible, les plantes vasculaires qui croissent dans les terres cultivées, dans les décombres, témoignent une préférence remarquable pour les nitrates. Ces terres sont l'objet d'une nitrification active, et il est bien probable qu'il n'y a là que des phénomènes d'adaptation entre les propriétés physiologiques de l'organisme et ses conditions de vie.

Au point de vue de l'économie de la nature, la production des nitrates nous apparaît comme un phénomène superflu, nuisible même, puisque les plantes qui se nourrissent de nitrates doivent réduire ces sels afin d'en préparer des combinaisons ammoniacales propres à l'assimilation. Si la nitrification existe et joue un rôle si considérable dans la chimie du sol, elle n'est pas, comme on le croit souvent, un moyen de préparer la nutrition des plantes vasculaires. C'est un phénomène fatal, qui est en grande partie l'œuvre des infiniment petits. Et les plantes commensales des microbes du sol auront dû s'habituer à se nourrir de nitrates, sans perdre leur capacité d'assimilation pour l'ammoniaque.

---

(1) Bien souvent j'ai constaté que pour les Bactéries vulgaires, les sels ammoniacaux sont bien plus utiles que les nitrates comme source d'azote.

ACTION COMPARÉE

DES

NITRATES ET DES SELS AMMONIACAUX SUR LA LEVURE

PAR

É. LAURENT (¹)

D'après M. A. Mayer (²) et M. Nägeli (³), les sels ammoniacaux sont beaucoup plus utiles que les nitrates au développement de la Levure. Cependant, Dubrunfaut (⁴) avait assuré que l'acide nitrique du nitrate de potassium disparaît pendant la fermentation. J'ai institué quelques expériences dans le but de vérifier ces assertions contradictoires, si intéressantes pour la physiologie comparée. Car nous n'avons, en réalité, que fort peu de documents certains sur les phénomènes de synthèse des albuminoïdes.

Dans ces nouveaux essais, comme dans les études sur l'alimentation hydrocarbonée, j'ai employé la solution minérale suivante :

Eau	1,000 c. c.
Phosphate de potassium	0,75 gr.
Sulfate de magnésium	0,1 —

(¹) Ceci constituait le chapitre VIII du travail de Laurent : *Recherches physiologiques sur les Levures.* (Voir REC. INST. BOT. UNIV. DE BRUX., t. I, p. 135.) C'était aussi le chapitre Iᵉʳ du travail précédent de ce tome-ci.

(²) *Untersuch. über die alkoholische Gährung,* 1869.

(³) *Untersuch. über niedere Pilze,* p. 33, 1882. Expérience faite en décembre 1877.

(⁴) *Comptes rendus,* t. LXXIII, p. 263, 1871.

J'y ai ajouté 50 grammes de saccharose très pure et l'un des sels azotés que voici :

Sulfate d'ammoniaque	4,71 gr.
Phosphate neutre d'ammoniaque	4,71 —
Nitrate de potassium	7,22 —
Nitrate de sodium	6,07 —
Nitrite de potassium	6,07 —

Ces quantités sont équivalentes au point de vue de la quantité d'azote introduite dans les différents mélanges.

J'ai mis 50 centimètres cubes de chacune de ces solutions dans des matras de 250 centimètres cubes, de manière à n'avoir qu'une couche liquide d'un centimètre d'épaisseur. Une couche plus profonde eût nui à la croissance à cause de l'aération insuffisante.

Dans chaque matras, il y avait $2^{gr}5$ de saccharose. Celle-ci renferme toujours des traces de matières azotées. Afin de calculer l'influence de celles-ci sur la Levure, j'ai établi une culture sans ajouter de sel azoté au liquide nutritif.

Les six matras ont été stérilisés à la vapeur à 100° et inoculés avec une trace de Levure de bière de Bruxelles le 2 mars 1888. Ils furent placés dans une armoire obscure, où règne une température de 12 à 15°. Cette basse température avait pour but de ralentir le développement et de favoriser la vie aérobie.

Dans la culture avec nitrite de potassium, rien ne s'est développé. Le matras avec le sulfate d'ammoniaque a présenté le dépôt le plus important pendant les trois premières semaines. Plus tard, le phosphate d'ammoniaque s'est montré plus avantageux. Enfin, au fond du matras témoin, il n'y avait qu'un dépôt très faible; avec les nitrates, le résultat ne fut guère meilleur.

Le 13 mai, l'expérience fut arrêtée, les liquides de culture filtrés, bien lavés et pesés.

Voici les poids de Levure constatés :

Avec phosphate d'ammoniaque	0,174 gr.
— sulfate d'ammoniaque	0,110 —
— nitrate de potassium	0,011 —
— nitrate de sodium	0,0174 —
— nitrite de potassium	0,000 —
Témoin	0,009 —

La Levure préfère donc d'une façon manifeste les sels ammoniacaux aux nitrates. Les nitrites ne sont pas assimilés et même paraissent vénéneux, puisque la minime proportion de Levure signalée dans le matras témoin n'existe pas dans le matras avec nitrite de potassium.

Ne serait-il pas possible d'interpréter l'action peu favorable des nitrates en admettant que dans la profondeur des liquides, les cellules de la Levure tendent à transformer les nitrates en nitrites? Pour que cette hypothèse soit admissible, il faut démontrer que la Levure peut réduire les nitrates, propriété qui a été niée par M. Jorissen (¹). Il convient de reprocher à l'unique essai fait par ce chimiste d'avoir été entrepris dans des conditions assez imparfaites. En effet, M. Jorissen a employé de la Levure ordinaire, que l'on aurait tort de considérer comme pure de Bactéries. Il a préparé un mélange de sucre et de nitrate de potassium. Dans ces conditions, le dédoublement du sucre était évidemment plus facile pour la Levure que l'enlèvement d'un atome d'oxygène au sel azoté.

Comme les Levures ne végètent qu'avec peine dans les solutions qui ne renferment que de l'azote nitrique comme aliment azoté, je ne m'attendais nullement à des résultats bien nets par la culture dans de tels milieux. Plusieurs essais ont confirmé mes prévisions : après deux ou trois mois, il n'y avait pas encore trace de réduction des nitrates. Il en a été de même pour les liquides additionnés de sucre à 5 et 10 °/₀ et de nitrate de potassium à 1 °/₀, dans lesquels je cultivais de la Levure pure.

Les résultats ont été tout autres dans les expériences suivantes.

J'ai préparé une solution minérale avec nitrate de potassium à 6^{gr}07 par litre et seulement 2,5 °/₀ de saccharose. La liqueur traitée par le chlorure de naphtylamine et l'acide sulfanilique ne donnait aucune trace de nitrite.

La solution a été répartie entre des matras coniques remplis jusqu'au voisinage du goulot. Cette précaution rendait l'aération du moût beaucoup moins facile.

Après stérilisation, j'ai introduit dans ces matras des dépôts de

---

(¹) *Bulletin de l'Académie royale de Belgique,* 3ᵉ sér., t. X, p. 595.

Levures récoltés dans des cultures en moûts sucrés et absolument privés de Bactéries.

Ces Levures étaient :

Levure basse de vin de Champagne.
— — de bière de Strasbourg.
— haute de bière de Bruxelles.
Mycolevure de M. Duclaux.

Les matras furent placés à la température de 20 à 22°. Au bout de deux jours, la réaction des nitrites était des plus évidentes dans le matras avec la Mycolevure ; elle était moins nette avec les trois autres Levures. Cependant, après huit jours, il n'y avait plus le moindre doute sur le pouvoir réducteur de ces Levures vis-à-vis des nitrates.

Les Levures qui avaient servi à ces essais, furent ensemencées dans des moûts sucrés ordinaires ; leur vitalité n'était nullement altérée.

Les Levures peuvent donc réduire les nitrates, et l'on pourrait dès lors concevoir que si les nitrites sont en réalité toxiques pour elles, elles aient été amenées, par évolution, à préférer les sels ammoniacaux comme source d'azote inorganique.

Mais la question de la toxicité des nitrites est en réalité plus complexe qu'elle ne le paraît à première vue. Lorsqu'on fait divers essais de culture de la Levure dans des liquides additionnés de nitrite de potassium, on obtient des résultats assez variables. Pour des doses égales, ce sel, tantôt se montre vénéneux et tantôt est sans action nuisible sur la Levure. Cela dépend de la réaction neutre ou acide du milieu de culture ; on observe ici des faits du même ordre que ceux qui ont été signalés par MM. Lœw et Bokorny (1) pour l'action des nitrites sur les algues filamenteuses. Ce ne sont pas les nitrites qui sont nuisibles, mais bien l'acide nitreux, et ces sels deviennent vénéneux en présence d'un suc cellulaire qui met l'acide en liberté.

---

(1) *Botan. Zeitung*, 1887, p. 855.

Cette assertion se trouve complètement vérifiée par l'expérience. Ensemencée dans des liquides sucrés neutres et additionnés de potassium à $^1/_{500}$, $^1/_{750}$, $^1/_{1000}$, $^1/_{2000}$, etc., la Levure de bière s'y développe et ne paraît pas se ressentir de la présence du sel. Comme les cellules de Levure sécrètent normalement des substances acides, il est certain que de petites quantités d'acide nitreux sont mises en liberté et doivent à la longue nuire au microbe. J'ai en effet observé que dans des solutions sucrées avec $^1/_{50}$, $^1/_{100}$, $^1/_{200}$, $^1/_{250}$ de nitrite, le développement de la Levure est maladif. Elle prend l'aspect d'amas très rameux; dans les cellules, il y a de grandes vacuoles et des corpuscules graisseux abondants. Des doses aussi élevées semblent nuire directement aux cellules vivantes, exciter la production d'acides par le protoplasme, et provoquer ainsi une accumulation d'acide nitreux dans le liquide de culture. On ne peut invoquer ici des phénomènes de pression osmotique, car la Levure que j'ai étudiée résiste à plus de 4 °/₀ de chlorure de sodium.

Dans les mêmes solutions que précédemment, mais avec addition de 1 ou 2 millièmes d'acide tartrique, le nitrite de potassium paralyse aux doses suivantes : $^1/_{500}$, $^1/_{1\,000}$, $^1/_{2000}$. Une solution à $^1/_{20000}$ ralentit le développement, et avec $^1/_{10000}$ et $^1/_{5000}$, il se produit tardivement des amas cellulaires floconneux au fond du liquide. J'ai déjà dit que ces amas trahissent un malaise physiologique. Des doses de $^1/_{50000}$ et de $^1/_{100000}$ de nitrite n'entravent nullement la croissance.

A l'état naturel et dans l'industrie, les Levures vivent dans des liquides acides, et l'on peut dire que la présence de nitrites, à doses suffisantes dans le milieu ambiant, est toujours nuisible.

Cette étude relative à l'action des nitrites sur la Levure peut jeter quelque lumière sur une question d'un intérêt pratique assez important. L'expérience a appris aux brasseurs que la plupart des eaux qui contiennent des nitrates sont dangereuses pour la préparation de la bière, surtout lorsqu'elles proviennent de puits peu profonds. La Levure s'affaiblit rapidement dans les moûts préparés avec ces eaux ; la conservation de la bière est incertaine. Mes essais sur la réduction des nitrates par les Levures prouvent que si ce phénomène est possible, il est peu probable qu'il puisse se passer dans la cuve à fermentation.

Le moût de bière en ébullition peut aussi donner lieu à la formation de nitrites, mais en quantité très faible. Il semble dès lors que ce ne soient pas les nitrates qui nuisent à la Levure, mais bien les nitrites qui existent presque toujours avec ces sels dans les eaux venant de faibles profondeurs. Ces nitrites seraient décomposés par les acides du moût de bière et mettraient en liberté de l'acide nitreux, nuisible pour la Levure.

Telle est mon opinion, mais les propriétés physiologiques des Levures sont assez variables pour que nous puissions supposer que certaines races aient le pouvoir de réduire nettement les nitrates, même pendant la fermentation alcoolique.

Puisque les Levures peuvent réduire les nitrates, il est permis de se demander si elles sont capables de décolorer les couleurs qui, comme le carmin d'indigo, ne résistent pas aux agents réducteurs.

Divers essais ont été tentés dans les solutions colorées par le carmin d'indigo. Malheureusement, les sucres, surtout dans les solutions colorées avant la stérilisation, détruisent rapidement la matière colorante ; la décoloration se fait aussi à froid, mais plus lentement.

Dans l'eau distillée, additionnée d'une goutte d'une solution concentrée de carmin d'indigo, la décoloration n'a pas lieu. Si l'on y verse des dépôts de culture pure de Levures, on ne tarde pas à constater une décoloration lente, mais progressive. C'est ce que j'ai observé avec :

Levure de bière de Bruxelles ;
— — de pale ale ;
— — de Strasbourg ;
— de vin de Champagne ;
— — de Bourgogne ;
Mycolevure.

La décoloration m'a paru se continuer encore avec des cellules de Levures tuées par la chaleur, de sorte que le phénomène est une propriété des matières organiques, plutôt qu'une propriété physiologique.

Pour terminer l'histoire des propriétés réductrices des Levures, je rappellerai les anciennes expériences de M. Schutzemberger (1) sur la réduction de l'oxyhémoglobine par ces organismes. Dans ce cas, la réduction ne paraît pas directe, mais simplement provoquée par une diminution de pression de l'oxygène dans le milieu extérieur.

CONCLUSIONS.

Les Levures assimilent les sels ammoniacaux beaucoup mieux que les nitrates. Les nitrites leur sont nuisibles lorsque de l'acide nitreux est mis en liberté. Les Levures peuvent réduire les nitrates en nitrites, mais cette propriété n'est bien apparente que dans les liquides faiblement sucrés.

Travail fait au Laboratoire de physiologie végétale de l'Université de Bruxelles et au Laboratoire de chimie biologique de la Sorbonne, à Paris.

---

(1) Schutzemberger, *Les fermentations*, p. 107, 1875.

EXPÉRIENCES

SUR LA

PRODUCTION DES NODOSITÉS CHEZ LE POIS

A LA

SUITE D'INOCULATIONS

PAR

É. LAURENT (¹)

La question des nodosités des Légumineuses et de l'origine de l'azote de ces végétaux, continue à passionner les physiologistes et les agronomes. Tandis que certains botanistes estiment encore que les corpuscules bactériformes contenus dans ces nodosités ne sont pas des organismes autonomes, il semble résulter des recherches expérimentales de M. Prillieux (²), de M. Frank (³), de MM. Hellriegel et Wilfarth (⁴), de M. Marshall Ward (⁵), de M. Praz-

---

(¹) Ce travail a paru dans le *Bulletin de l'Académie royale de Belgique*, juin 1890, 3e sér., vol. XIX, p. 764.

(²) *Bull. de la Soc. botan. de France*, t. XXVI, p. 98, 1879.

(³) *Botan. Zeitung*, 1879, p. 377.

(⁴) *Tageblatt der Naturforscher-Versammlung zu Berlin*, 1886, et travaux ultérieurs.

(⁵) *Philosophical Transactions of the Roy. Society of London* (B), vol. 178, p. 539, 1887, et *Proceedings of the Royal Society*, vol. XLVI, p. 431, 1889.

mowski (1), de M. Beyerinck (2) et de M. Bréal (3), que ces productions sont dues au développement de microbes particuliers (4). Cependant, la culture fort difficile de ces êtres n'a pas permis d'obtenir des résultats d'une netteté qui les mette à l'abri de toute critique. On est donc réduit à emporter les convictions par des recherches nombreuses faites sur différentes espèces. C'est ce qui m'a déterminé à instituer depuis l'année dernière plusieurs séries d'expériences de culture sur la production de nodosités chez le Pois. Après beaucoup d'essais infructueux, je suis enfin arrivé à des résultats qui confirment pleinement la nature microbienne des nodosités de cette plante.

Comme M. Marshall Ward et M. Bréal, j'ai eu recours à la méthode des cultures dans l'eau qui s'est montrée si favorable, à la solution de maints problèmes de physiologie végétale. Depuis assez longtemps, on avait observé que les Légumineuses cultivées dans des liquides nourriciers ne donnent pas régulièrement des nodosités radicales. En 1888, j'avais eu l'occasion de constater le même fait avec le Pois. D'après M. Bréal, le développement de ces petits tubercules est assuré si l'on prend la précaution d'inoculer sous l'épiderme des jeunes racines de Pois une petite portion du contenu des nodosités de Luzerne. C'est ce que je viens de vérifier de la façon la plus convaincante.

Au commencement de mai, j'avais fait germer des graines de Pois d'une variété très naine sur une étamine tendue au-dessus d'un critallisoir rempli d'eau. Le 15 mai, les plantes avaient développé des tiges de 4 à 6 centimètres et des racines un peu plus allongées, mais vierges de tout renflement.

---

(1) *Botan. Centralbl.*, XXXVI, n^os^ 7, 8 et 9, d'après une communication faite au Congrès des naturalistes polonais, le 20 juillet 1888.

(2) *Botan. Zeitung*, 1888, n^os^ 46 à 50.

(3) *Annales agronomiques*, t. XIV, p. 481, 1888, et t. XV, p. 529, 1889.

(4) Sous le nom de microbes, je désigne l'ensemble des organismes inférieurs; au contraire, beaucoup de biologistes considèrent ce terme comme synonyme de Bactéries. C'est à dessein que je fais ici cette remarque, afin de ne pas laisser supposer que je range dans le groupe des Bactéries les organismes qui causent la production des nodosités chez les Légumineuses.

Quinze de ces Pois furent cultivés dans le mélange nutritif de Sachs privé d'azote combiné et additionné de 0.5 ‰ de sulfate de potassium :

Eau distillée	1,000	cc.
Sulfate de magnésium	0,5	gr.
— de potassium	0,5	—
— de calcium	0,5	—
— de fer	0,01	—
Phosphate tricalcique	0,5	—
Chlorure de sodium	0,5	—

Chaque bocal, en verre, de forme cylindrique, contenait environ 250 centimètres cubes de liquide et était fermé par un bouchon plat coupé en deux moitiés et percé d'une ouverture dans laquelle la plante était fixée.

Aussitôt les cultures préparées, j'ai pris un fil de verre terminé en pointe recourbée et je l'ai plongé dans la profondeur des nodosités de diverses espèces de Légumineuses. Une petite quantité du contenu cellulaire restait adhérente au fil de verre ; je l'introduisais immédiatement sous l'épiderme des jeunes racines à infecter. Après chaque inoculation, la petite pointe de verre était jetée ou passée dans une flamme.

Voici les espèces avec lesquelles onze Pois ont été inoculés :

3	Pois avec nodosités	de Pois *(Pisum sativum) ;*
3	—	de Fève *(Faba vulgaris) ;*
2	—	de Trèfle incarnat *(Trifolium incarnatum) ;*
1	—	de Trèfle élégant *(Trifolium elegans) ;*
1	—	de Limaçon *(Medicago scutellata) ;*
1	—	de Lentille *(Ervum Lens).*

Quatre Pois ne furent pas inoculés afin de servir de témoins.

Les plantes auxquelles j'ai pris la substance à inoculer croissaient au Jardin botanique. La plupart provenaient de semis faits en pleine terre et les nodosités étaient peu développées.

Il convient de remarquer que mes cultures n'étaient pas à l'abri des germes étrangers, qui auraient pu se trouver dans l'eau distillée ou dans les bocaux, ou tomber pendant les manipulations. Des cultures faites et conservées dans des conditions rigoureuses de pureté sont extrêmement difficiles; je voulais d'abord comparer le développement de Pois inoculés et de Pois non inoculés cultivés dans les conditions ordinaires.

Huit Pois furent également mis en expérience dans le mélange nutritif de Sachs complet, c'est-à-dire avec 1 $^0/_{00}$ de nitrate de sodium. Ils furent inoculés comme suit :

3 avec nodosités de Pois;
3 — de Fève;
2 furent conservés comme témoins.

Enfin, le même jour, j'ai cultivé dix Pois dans un mélange d'eau, de phosphate de calcium et de chlorure de potassium à 1 $^0/_{00}$, milieu employé par M. Bréal pour ses cultures. De ces dix plantes :

3 furent inoculées avec nodosités de Pois;
2 — — de Fève;
2 — — de Trèfle incarnat;
1 — — de Limaçon;
1 — — de Lentille.

Deux servirent de témoins.

Toutes les cultures furent placées dans une serre afin de hâter la croissance. Des manchons en zinc entouraient les bocaux en verre et mettaient les racines à l'abri des rayons lumineux.

Le 25 mai, je constatai que des nodosités commençaient à poindre sur les racines de plusieurs Pois inoculés et qu'il n'y en avait point sur les Pois témoins.

Le 3 juin, les résultats étaient vraiment merveilleux.

Tous les Pois de la série avec liquide sans nitrate présentaient des nodosités. Elles étaient nombreuses et grosses sur les Pois inoculés avec des nodosités de Trèfle incarnat, de Fève et surtout de Pois; celles qui provenaient des inoculations faites avec les nodosités de Limaçon et de Tréfle élégant étaient moins saillantes. Enfin sur le Pois inoculé avec les nodosités de Lentille, les renflements étaient encore plus petits et moins abondants.

Des quatre témoins, trois étaient tout à fait privés de nodosités; sur le quatrième, on voyait de légers soulèvements de l'épiderme que j'avais considérés d'abord comme des nodosités en voie de formation. Il n'en était rien, car, après quelques jours, de petites racines se montraient à l'endroit des soulèvements épidermiques. Les racines des Pois infectés artificiellement étaient plus trapues et moins ramifiées que celles qui n'avaient pas été inoculées. Il semblait même exister une différence analogue dans les bourgeons. La plupart des tiges des Pois infectés, surtout celles qui correspondaient à des racines riches en nodosités volumineuses, étaient un peu moins élevées. La production de nodosités paraît donc nuire à la croissance par une sorte de balancement organique, au moins pendant les premiers temps de la végétation.

Dans le mélange nutritif de M. Bréal, les résultats sont entièrement comparables à ceux que je viens d'exposer; seulement la production des nodosités est moins brillante et les racines sont plus courtes. Même, il n'y a guère de nodosités sur les Pois inoculés avec les renflements de Fève et de Trèfle incarnat. Bref, le milieu convient moins bien que le mélange de Sachs privé de nitrate.

Dans ce mélange avec nitrate, les résultats m'ont vivement étonné. La végétation a un aspect plus vigoureux; les tiges sont plus hautes, les feuilles plus larges et d'un vert plus foncé que dans les deux autres séries de cultures. Les racines sont aussi plus longues et plus ramifiées. Celles qui ont été inoculées avec des nodosités de Pois présentent des nodosités petites et peu nombreuses. On a de la peine à les découvrir. Sur les trois Pois inoculés avec des nodosités de Fève, il n'y a que de très rares renflements.

En résumé, des vingt-cinq Pois inoculés dans les trois séries de cultures, tous ont donné des nodosités plus ou moins abondantes selon la nature du liquide nutritif et des espèces qui ont fourni la substance inoculée. Des huit Pois non inoculés, aucun n'a donné de nodosités.

Il est sans doute permis de conclure de ces résultats que les nodosités radicales des Légumineuses renferment des organismes qui peuvent se transmettre par inoculation à des racines intactes. L'infection peut se faire entre plantes d'espèces différentes, ce qui tend à confirmer l'opinion déjà émise, que ces microbes ne sont pas propres à chaque espèce.

Le résultat donné par les cultures de Pois dans le liquide additionné de nitrate confirme cette observation faite par M. H. de Vries (1), M. Schindler (2) et M. Vines (3), que dans un milieu riche en matières azotées, l'aptitude à produire des nodosités diminue d'une manière très sensible.

Comment interpréter cette influence des engrais azotés? Est-ce une sorte de *calcul égoïste* de la part des Légumineuses, ou bien est-ce le nitrate qui agit directement sur le microbe producteur des nodosités? De nouvelles expériences m'éclaireront sur ce point.

A côté de ces premiers résultats de mes cultures de cette année, je crois intéressant d'indiquer sommairement ceux que j'avais obtenus pendant l'été de 1889 avec des cultures similaires faites à l'Institut Pasteur à Paris.

J'avais fait, dans le mélange de Sachs sans azote, un assez grand nombre d'essais de culture de variétés naines de Pois et de Fève, qui, en pleine terre, donnaient des nodosités en abondance. En vain, j'inoculais sur les racines de mes plantes le contenu de nodosités de Fèves et de Pois recueillis dans le jardin au moment de la floraison. Je ne vis apparaître aucune trace de renflement sur les racines, ce que je m'explique maintenant par l'âge des nodosités employées pour l'infection. D'après M. Beyerinck, la vitalité des microbes que renferment les nodosités de Légumineuses ne tarde pas, en effet, à diminuer et à disparaître.

---

(1) *Wachsthumgeschichte des rothen Klees.* (Landwirth. Jahrbücher, Berlin, t. VI, 1877.)

(2) *Botan. Centralbl.*, t. XVIII, 1884.

(3) *Annals of Botany*, vol. II, 1888-1889, p. 386.

Quant à la culture de ces microbes, je l'avais essayée en 1889 avec M. le Dr Roux. Il n'y eut aucune croissance sur gélatine nutritive. Dans le bouillon, nous observâmes après plusieurs semaines la formation d'un léger dépôt qui contenait des corpuscules bactériformes très courts et des masses sphériques analogues à des spores.

La lenteur de ce développement contraste singulièrement avec la croissance rapide des Bactéries que MM. Petermann et Tournay (1) affirment avoir extraites des tubercules de Lupin jaune et qui seraient, disent-ils, analogues à des Bactéries qu'ils ont rencontrées dans le sol et les eaux de drainage. La facilité avec laquelle M. Bréal (2) a réussi à cultiver les prétendues Bactéries de nodosités me paraît également sujette à caution. Aussi, j'ai repris ces essais de culture en vue d'expliquer les faits contradictoires et d'établir de nouvelles expériences d'inoculation sur des racines de Légumineuses.

Bruxelles, Laboratoire d'anatomie et de physiologie végétales de de l'Université, le 7 juin 1890.

---

(1) *Contribution à la question de l'azote.* (MÉMOIRES COURONNÉS ET AUTRES MÉMOIRES DE L'ACAD. ROY. DE BELGIQUE, t. XLIV, p. 18, 1889.)

(2) *Loc. cit.*

EXPLICATION DE LA PLANCHE.

1, 2, 3, 4 et 5. Pois cultivés dans le mélange nutritif de Sachs sans nitrate.

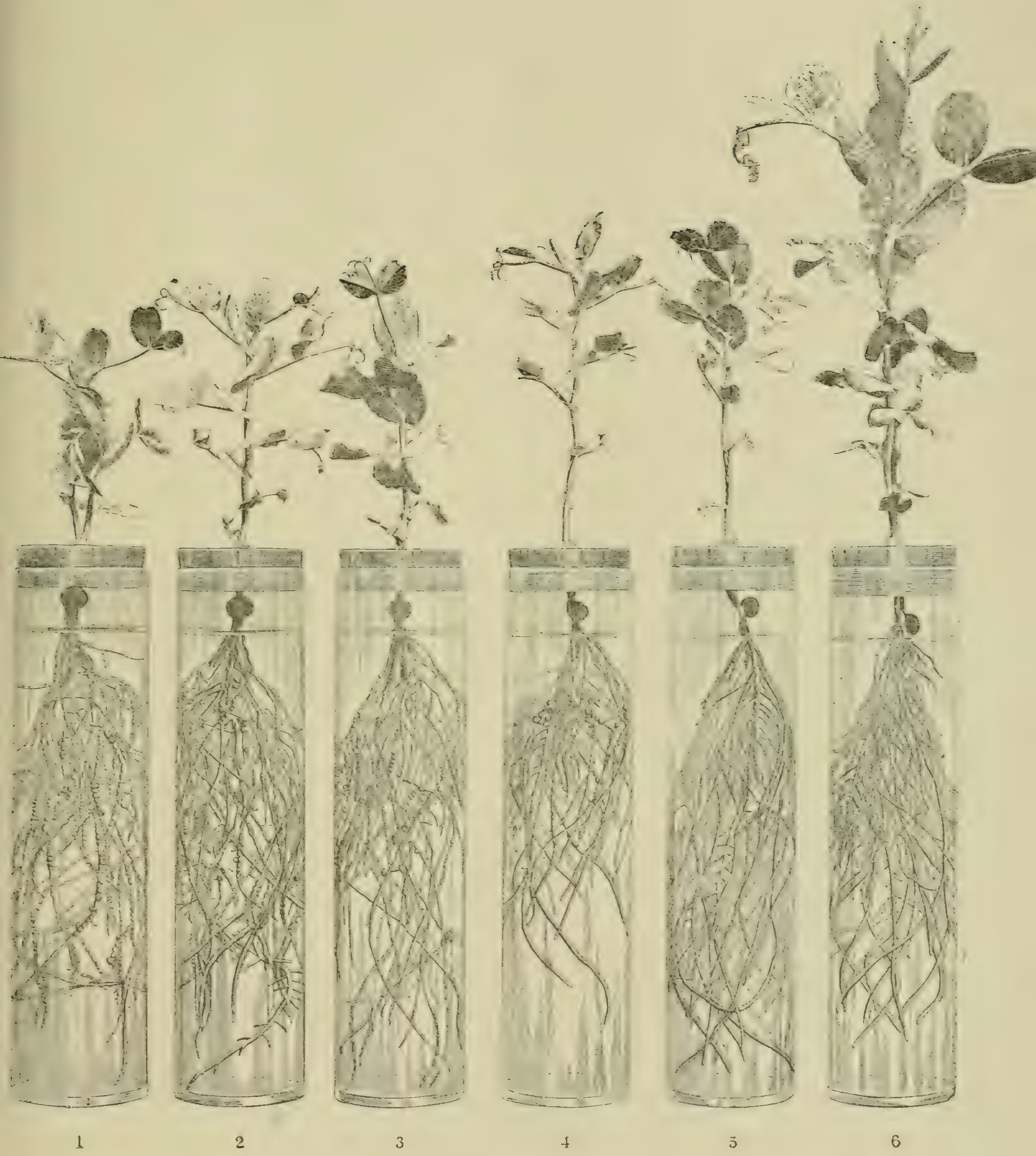
1. Inoculation avec nodosités de Fève.

2. — — de Trèfle incarnat.

3 et 4. — — de Pois.

5. Aucune inoculation.

6. Pois cultivé dans le mélange de Sachs avec nitrate et inoculé avec nodosités de Pois.


1
2
3
4
5
6

RÉDUCTION

DES

NITRATES PAR LA LUMIÈRE SOLAIRE

PAR

É. LAURENT (1)

L'influence de la lumière sur les matières organiques a été l'objet d'observations très anciennes. On en doit l'étude méthodique à M. Duclaux (2), qui a soumis à la radiation solaire un grand nombre de substances hydrocarbonées. Ce savant a montré que toutes les réactions que peut produire la chaleur peuvent aussi être provoquées par la lumière. L'inverse n'est pas vrai, et il y a beaucoup de phénomènes d'oxydation et de réduction que la lumière semble seule capable de déterminer.

Dans ces réactions, qui se résument toutes en une dislocation de la molécule primitive du composé organique, il se produit un certain nombre de corps tels que les acides carbonique, oxalique, formique, acétique, butyrique et valérianique, l'alcool éthylique et les aldéhydes méthylique et éthylique.

Coïncidence remarquable, qui a été bien comprise par M. Duclaux, tous ces corps résiduaires sont aussi les produits les plus communs de l'action des microbes. Leur formation dans des phénomènes aussi différents est donc en relation avec la stabilité de leur molécule, plutôt qu'avec la nature de l'agent qui les produit.

---

(1) Ce travail a paru dans le *Bulletin de l'Académie royale de Belgique*, 3e série, t. XX, no 8, pp. 303-308, 1890.

(2) E. Duclaux, *Action de la lumière solaire sur les substances hydrocarbonées.* (Annales de l'Institut agronomique de Paris, t. X, 1886.)

Il est intéressant de voir de simples actions chimiques, provoquées par la lumière, donner lieu à la formation de corps que nous sommes habitués à considérer comme des produits de l'activité des microbes.

Ce ne sont pas seulement des substances organiques qui peuvent être décomposées par la radiation solaire. Les acides et les sels inorganiques subissent des modifications du même ordre, bien connues des chimistes. C'est ainsi que l'acide nitrique pur se réduit sous l'influence du rayon solaire avec production de peroxyde d'azote, et se colore d'autant plus qu'il était plus concentré.

J'ai observé qu'il en était de même pour les nitrates : sous l'influence de la lumière, ils sont réduits en nitrites. On avait longtemps considéré ce phénomène comme particulier à quelques Bactéries. En 1885, j'ai indiqué que les plantes supérieures (graines en germination et tubercules) jouissent de la même propriété. Depuis lors, j'ai constaté qu'il en est de même pour des moisissures et pour des Levures (¹). Nous voici de nouveau en présence d'un phénomène que l'on attribuait exclusivement aux microbes sous l'influence d'un simple préjugé et qui, cependant, est très général dans la nature.

La sensibilité des solutions de nitrates vis-à-vis de la lumière est très grande.

Au mois d'août 1887, j'avais exposé au soleil, dans une serre, quatre tubes à essais, dont deux contenaient 10 centimètres cubes de nitrate de potassium à 5 °/₀, et les deux autres du nitrate de sodium à la même concentration. En même temps, je mettais deux tubes témoins sous une cloche noire. Tous les tubes avaient été au préalable stérilisés afin d'éviter l'action des Bactéries. La radiation solaire était très vive ; à l'intérieur des tubes, la température ne fut jamais supérieure à 39°.

(¹) Voir ma note *Sur la réduction des nitrates par les Levures et les moisissures*, même tome (travail suivant).

Après deux heures d'insolation, je fus surpris de constater dans les tubes insolés une réaction très nette des nitrites, tandis que les tubes à l'obscurité n'en donnaient pas de trace. Les nitrites étaient caractérisés au moyen du réactif de Griess (acide sulfanilique, acide chlorhydrique et chlorure de naphtylamine). C'est un réactif d'une sensibilité extrême.

Il n'est même pas nécessaire de soumettre les solutions nitriques à l'action directe des rayons solaires. Des tubes avec nitrates en solution furent placés sur une fenêtre exposée au nord; ils ne recevaient que de la lumière diffuse. Néanmoins, après six heures, ils donnaient une réaction nitreuse assez marquée.

Ces expériences ont été reprises et complétées pendant l'été de l'année 1889, qui, à Paris, a été extrêmement favorable aux essais de cette nature.

Le 13 juin, j'exposais au soleil trois tubes à essais; l'un renfermait du nitrate de potassium à 1 °/₀, un autre du nitrate de sodium, et le troisième du nitrate de calcium à la même concentration. A côté, je plaçais trois tubes avec les mêmes solutions, sauf cette différence que les rayons solaires devaient traverser pour les atteindre une couche de sulfate de quinine de 3 centimètres d'épaisseur. Il y avait aussi trois tubes avec nitrates sous une couche d'eau distillée de même épaisseur, et trois autres tubes sous une cloche noire. Enfin, un treizième tube bien bouché renfermait 1 gramme de nitrate de potassium desséché au préalable à 170°.

L'expérience avait été commencée à midi, par un soleil radieux et un ciel sans nuage. A 4 heures, les trois tubes exposés directement au soleil et les tubes sous la couche d'eau distillée donnaient la réaction des nitrites de la manière la plus nette. Par contre, les tubes à l'obscurité n'en contenaient point de traces. Quant aux tubes sous le sulfate de quinine, ils ont donné une réaction extrêmement faible, ce que j'attribue à ce que le sulfate de quinine n'intercepte pas complètement les rayons chimiques. Dans ces derniers tubes, laissés en expérience jusqu'au 16 juin, la proportion de nitrite n'a pas augmenté sensiblement, bien que le soleil ait été très ardent pendant les journées du 14 et du 15.

Le nitrate sec, exposé au soleil, avait aussi subi l'action réductrice : dissous dans l'eau, il donnait une faible réaction nitreuse.

Depuis les expériences de Niepce de Saint-Victor, on sait que certaines substances, — l'acide pyrogallique et le papier sont du nombre, — impressionnées par la lumière, permettent la réduction d'un sel d'argent, ajouté ultérieurement dans l'obscurité. Il n'en est pas ainsi pour les nitrates : ils doivent être exposés directement à la lumière.

Dans deux tubes secs exposés pendant trois heures à un soleil intense, j'ai introduit quelques centimètres cubes de nitrate de potassium en solution à 1 °/₀. Je n'ai constaté par la suite aucune réaction de nitrite. On ne réussit pas mieux si l'on introduit dans les tubes isolés de l'eau distillée ou une substance organique, comme la peptone. Une solution de nitrate que l'on y ajoute après cinq ou six heures d'insolation ne subit aucune modification.

La réduction des nitrates par la lumière est indépendante de la présence de l'oxygène. Dans un tube à essai qui contenait une solution de nitrate, j'ai fait le vide avec la pompe à mercure. La production de nitrite a été aussi active qu'au contact de l'air.

L'action de la lumière sur les nitrates ne paraît pas s'arrêter à la production des nitrites. Une solution de nitrite de potassium à 1 pour 100,000, exposée à la lumière directe pendant trois heures d'été, donna une réaction visiblement plus faible que la même solution placée à l'obscurité ou sous la solution de sulfate de quinine.

Selon les groupements moléculaires sur lesquels elle exerce son action, la lumière est un agent d'oxydation aussi bien qu'un agent de réduction. Ainsi, du papier imprégné d'une solution de gaïac bleuit au soleil, et le même papier, plongé d'abord dans un bain d'eau de chlore et devenu bleu, se décolore après quelques heures d'insolation (¹).

On pourrait donc supposer que la lumière soit capable de déterminer la nitrification des sels ammoniacaux. A plusieurs reprises,

---

(¹) J. HERSCHEL, *Philos. Transact.*, 1842, et E. BECQUEREL, *De la lumière*, t. II, p. 98.

en 1887 et en 1889, j'ai exposé au soleil des solutions de sulfate et de chlorure d'ammoniaque. Mais jamais, même après dix jours d'insolation intense, il n'y a eu production de traces de nitrate. Les rayons solaires détruisent donc les nitrates, mais ne peuvent provoquer la production de ces sels aux dépens des substances ammoniacales.

L'action réductrice du soleil sur les nitrates peut assurément s'exercer sur le nitrate d'ammoniaque produit dans l'atmosphère par les actions électriques et qui s'y trouve en suspension à l'état de particules. D'autre part, les couches superficielles du sol sont celles où la nitrification est la plus active. Dans nos champs cultivés, à l'époque des labours et des semailles, de petites quantités de nitrates doivent être modifiées par les rayons solaires. Enfin, la sève des plantes renferme souvent des nitrates qui parviennent dans les feuilles et s'y trouvent exposés à l'influence de la radiation. Qui sait si ces sels n'y sont pas l'objet de phénomènes réducteurs?

D'après ce que nous savons sur la composition des substances organiques azotées les plus fréquentes dans les végétaux, on peut supposer que les nitrates sont réduits et transformés en combinaisons ammoniacales avant d'être assimilés par le protoplasme. Chez les Champignons et les Bactéries, la lumière est certainement étrangère à ce phénomène, mais il ne serait pas impossible qu'il en fût tout autrement chez les plantes supérieures à chlorophylle.

SUR LA RÉDUCTION

DES

NITRATES PAR LA LEVURE DE BIÈRE

ET PAR

QUELQUES MOISISSURES

PAR

É. LAURENT (¹)

Dans une note publiée en 1884 dans le *Bulletin* de l'Académie, M. Jorissen annonçait que les graines renferment normalement des Bactéries et que ce sont ces microbes qui sécrètent la diastase au moment de la germination. Il contestait, en outre, le pouvoir réducteur des graines vis-à-vis des nitrates.

Aucune expérience directe faite par M. Jorissen ne paraît avoir servi de base à ces hypothèses. Elles n'ont eu d'autre point de départ que l'observation suivante, due à M. Jorissen : Dans un milieu qui renferme de l'acide cyanhydrique, ni la germination des graines, ni la réduction des nitrates n'ont lieu. L'embryon n'est pas détruit et il peut se développer dès que les conditions de milieu redeviennent favorables.

Au lieu de voir dans ce fait un exemple de l'action analogue des substances paralysantes ou toxiques sur des plantes supérieures et sur les microbes, M. Jorissen en a conclu qu'il y avait, dans les

---

(¹) Ce travail a paru dans le *Bulletin de l'Académie royale de Belgique,* 3ᵉ série, t. XX, nº 8, pp. 309-317, 1890.

graines, des Bactéries chargées de sécréter la diastase. Quant à la réduction des nitrates, ces mêmes bactéries n'en devaient pas être capables, car M. Jorissen en niait la possibilité pour les graines soustraites à l'action des microbes extérieurs.

Ces diverses assertions m'avaient paru exagérées, et je consacrai une partie de l'hiver de 1884 à les vérifier par l'expérience. Les résultats de mes recherches sur ce sujet furent soumis à l'Académie en juin 1885. Ils étaient absolument opposés à ceux de M. Jorissen : les graines et les tubercules que j'avais étudiés ne renferment pas de Bactéries à l'état normal ; les graines d'Orge et de Maïs en germination peuvent réduire les nitrates.

Quelque temps après, M. Jorissen (¹) émettait l'avis que j'avais tort de ne pas accorder grand crédit aux travaux de M. Béchamp, de M. Marcano et de Wigand sur l'existence des Bactéries intracellulaires. Il invoquait (*loc. cit.*, p. 591) l'opinion de M. Traube et de M. Pfeffer pour prétendre que les Bactéries sont les seuls organismes qui possèdent le pouvoir de réduire les nitrates dans les liquides de culture.

De plus, M. Jorissen a fait deux essais dont j'admets volontiers l'importance. Il a stérilisé cinquante graines d'Orge par l'immersion dans le sublimé, les a lavées à l'eau distillée bouillie, puis les a introduites dans un petit ballon stérilisé avec 50 centimètres cubes d'une solution de salpêtre à 1 °/₀. Celle-ci avait été au préalable bouillie pour la rendre stérile. M. Jorissen fermait ensuite le ballon au moyen d'un tampon d'ouate et exposait le tout à une température de 15 à 18°. Après vingt-quatre heures, il a constaté que le liquide était parfaitement limpide, que l'empois d'amidon ioduré ne le colorait pas en bleu après acidulation et qu'il ne jaunissait pas avec le métadiamidobenzol. Il ne contenait donc pas de nitrite, et cependant les graines n'avaient pas perdu leur faculté de germer.

L'auteur s'abstient de spécifier si les graines d'Orge étaient en germination au moment où il les a mises en expérience. C'est

---

(¹) *Bull. de l'Acad. royale de Belgique,* 3ᵉ série, t. X, p. 583, 1885.

cependant un point très important, puisque l'activité physiologique des graines se manifeste surtout pendant la germination.

J'aurais voulu également que M. Jorissen eût répété la recherche de nitrite après deux, trois, quatre ou cinq jours, lorsque précisément la germination des graines est assez avancée. Mais j'ai la conviction que M. Jorissen en aura été empêché par l'apparition des Bactéries dans son ballon en expérience. Il est, en effet, presque impossible de manipuler cinquante graines dans l'air sans les exposer à être contaminées par quelque germe de microbes. J'en sais quelque chose, malgré l'habitude que j'ai aujourd'hui des travaux microbiques.

Je suis non seulement incrédule à ce sujet : j'estime qu'une simple ébullition pourrait bien ne pas stériliser une solution de salpêtre.

L'expérience de M. Jorissen avec la Levure de bière n'est pas non plus bien probante. Du moût de bière, qu'il a préparé avec une solution de nitrate de potassium, a été ensemencé avec 1 ou 2 grammes de Levure sèche, bien saine. La présence d'acide nitreux n'a pas été observée.

Cette expérience est-elle péremptoire ? J'en doute, et voici mes raisons : La Levure sèche, telle qu'on la trouve dans le commerce, n'est pas pure, mais renferme toujours des Bactéries capables de détruire les nitrates. Ce phénomène n'a pas été réalisé à cause de la prédominance de la Levure. Et si celle-ci n'a pas réduit les nitrates à la fin de la fermentation, il est permis de supposer que c'est un effet de la fermentation alcoolique elle-même. En effet, la Levure emprunte son oxygène au sucre avec une si grande facilité qu'il serait étonnant qu'elle réduisît les nitrates aussi longtemps qu'elle a du sucre à sa disposition. Je démontrerai plus loin que cette supposition est parfaitement conforme aux faits.

M. Jorissen, à la fin de son mémoire, annonçait qu'il communiquerait bientôt des faits nouveaux à l'Académie. Je les ai attendus depuis quatre ans, car j'aurais préféré discuter en une fois tous les arguments de mon honorable contradicteur.

Comme en 1885, j'affirme que les graines de Maïs, d'Orge, de Froment, les tubercules de Pomme de terre, de Carotte, de Betterave, les tiges de Cactées ne renferment pas de Bactéries. Les résultats que j'avais obtenus ont été confirmés par des expérimentateurs habitués aux études microbiques.

M. Fernbach (¹) a fait des centaines d'essais de culture avec des fragments pris à l'intérieur de Tomates, de Navets, de Carottes, de Betteraves et de Pommes de terre. J'ai eu l'occasion d'être témoin de ces expériences exécutées avec les soins les plus minutieux. Les morceaux de tissus, enlevés au moyen d'un emporte-pièce stérilisé, étaient introduits dans du bouillon de veau ou dans de l'eau de navet sucrée, milieux très favorables au plus grand nombre de microbes. Sur cinq cent cinquante-cinq essais faits par M. Fernbach, trente-cinq seulement ont été fertiles. Cent tubes qui renfermaient des morceaux de Pomme de terre sont restés stériles. Les cas d'altération s'expliquent par les chances d'infection qui résultent de la manipulation des vases de culture et par la section au contact de l'air des cylindres pris dans les tubercules. L'auteur suppose que des germes peuvent accidentellement être introduits à l'intérieur des plantes par de petits animaux.

M. di Vestea (²) et MM. J. Grancher et E. Deschamps (³) sont arrivés aux mêmes résultats en opérant sur des légumes tuberculeux, des nervures de Laitue et des tiges d'Asperge. Pour augmenter les chances d'infection, ces végétaux furent arrosés avec des liquides très riches en microbes.

De mon côté, j'ai fait en 1889 quelques nouveaux essais sur des graines de Maïs et d'Orge *en germination*. Elles avaient été stérilisées par un séjour de quinze minutes dans un bain de bichlorure de mercure à 1 °/₀₀, puis lavées à l'eau stérilisée par le chauffage à 120°. Ces graines furent ensuite introduites avec précaution dans de larges tubes à essai qui contenaient un peu d'eau stérilisée. Lorsque la tigelle eut atteint 1 centimètre, les graines furent coupées en deux au moyen d'un scalpel flambé. J'y versai de la géla-

---

(¹) *Annales de l'Institut Pasteur*, t. II, p. 567, 1888.

(²) *Ibid.*, t. II, p. 670, 1888.

(³) *Archives de médecine expérim. et d'anatomie pathol.*, 1ʳᵉ série, t. I, p. 33, 1889.

tine nutritive ou du bouillon, sans constater par la suite de traces de développement de Bactéries (¹).

Le seul exemple de microbes non verts (²) en symbiose dans les cellules des plantes supérieures, et qui soit bien démontré, est relatif aux nodosités radicales des Légumineuses (³).

Le cas des nodosités des Légumineuses n'est probablement pas isolé parmi les végétaux, mais ce serait une exagération injustifiable que de généraliser en cette circonstance, selon l'habitude trop fréquente de certains biologistes.

Bien que les graines et les tubercules que j'ai étudiés en 1885 ne renferment pas de Bactéries, ils n'en sont pas moins capables de réduire les nitrates. Il suffit de répéter les essais que j'avais indiqués, il y a cinq ans, pour se rendre à l'évidence. Une douzaine de graines de Maïs, de Pois ou d'Orge, ou des morceaux de Pomme de terre placés au fond d'un tube à essai, sous une couche assez épaisse d'une solution de nitrate de potassium, donnent, après quelques heures, une réaction des nitrites assez marquée. Je me suis servi, pour les caractériser, de la naphtylamine en présence d'acide sulfanilique et d'une goutte d'acide chlorhydrique.

Aujourd'hui, comme en 1885, la réduction des nitrates me paraît être, ainsi que la fermentation alcoolique, une propriété commune à certains microbes et aux cellules de plantes supérieures, lorsque la vie se fait dans un milieu privé d'oxygène.

Ce serait une erreur de supposer que les Levures et les moisissures soient incapables de réduire les nitrates. Lorsqu'on fait fermenter des moûts très riches en sucre, additionnés d'un nitrate, on ne trouve jamais de traces de nitrite. Cela s'explique sans difficulté, comme je l'ai dit à la page 35. Il en est tout autrement

---

(¹) Voir ma note : *Sur l'absence de Bactéries dans les vaisseaux des plantes.* (BULL. DE L'ACAD. ROY. DE BELGIQUE, avril 1890.)

(²) On connaît des Algues inférieures qui vivent dans les tissus de végétaux plus élevés (Cycadées, *Gunnera, Azolla,* etc.).

(³) Voir ma note : *Sur les nodosités du Pois* (BULL. DE L'ACAD. ROY. DE BELGIQUE, juin 1890.).

lorsqu'on oblige le ferment à vivre dans un liquide faiblement sucré et que la semence que l'on y introduit est très abondante. Voici le mélange dans lequel j'ai fait des essais de réduction de nitrate par la Levure :

Eau	1,000 c. c.
Phosphate de potassium	5,75 gr.
Sulfate de magnésium	0,1 —
Nitrate de sodium	6,07 — (1)
Saccharose	2,5 —

Ce mélange, traité par l'acide sulfanilique et le chlorure de naphtylamine, ne donnait aucune trace de nitrite après stérilisation à l'autoclave à 120°. Il fut réparti dans des matras coniques remplis jusqu'au voisinage du goulot. Cette précaution rendait l'aération du liquide beaucoup moins facile. Après stérilisation, j'ai introduit dans ces matras des dépôts de Levures récoltés dans des cultures en moûts sucrés et absolument privés de Bactéries. Les dépôts avaient d'ailleurs eu pour point de départ des triages répétés sur gélatine avec moût de bière.

J'ai expérimenté sur les traces de Levures suivantes :

Levure de bière haute de Bruxelles,
— — basse de Strasbourg,
— basse de vin de Champagne,
Mycolevure de M. Duclaux.

Ce dernier organisme est une forme-levure remarquable par la rapidité de sa croissance et par la propriété de donner des mycodermes qui, après immersion dans un liquide sucré, provoquent une fermentation alcoolique active.

Les matras en expérience ont été placés à la température de 20 à 22°. Après deux jours, la réaction des nitrites était des plus évidentes dans le matras avec la Mycolevure; elle était moins nette avec les trois autres Levures. Cependant, au bout de huit jours, il n'y avait plus le moindre doute sur le pouvoir réducteur de ces Levures vis-à-vis des nitrates.

---

(1) Cette quantité fractionnaire correspond à 1 gramme d'azote par litre.

On vient de le voir, un microbe qui d'habitude n'exerce pas d'action réductrice sur les nitrates, acquiert cette propriété lorsqu'on le place dans des conditions appropriées. Aussi faut-il toujours se garder de généralisations prématurées lorsqu'on s'occupe de la physiologie des organismes inférieurs.

En dehors de la propriété de faire fermenter les sucres, on sait quelles analogies existent entre la vie des Levures et celle d'un grand nombre de moisissures. Bien que M. Nägeli (1) ait affirmé que ces derniers Champignons ne peuvent pas réduire les nitrates, opinion acceptée par M. Jorissen, je me suis décidé à quelques essais de vérification. J'ai mis en culture à 15-20°, dans la solution nutritive indiquée plus haut :

Cladosporium herbarum avec ses états polymorphes
  de *Dematium pullulans* et de forme-levure;
Penicillium glaucum,
Aspergillus glaucus,
— *niger*,
Alternaria tenuis,
Botrytis cinerea,
Mucor racemosus.

Dans les milieux artificiels, ces Champignons végètent avec une vigueur assez inégale. Mais, pour peu que la culture dure, on constate que certaines espèces possèdent à un degré bien marqué le pouvoir de réduire les nitrates en nitrites. Tels sont :

Cladosporium herbarum et ses états polymorphes,
Penicillium glaucum,
Alternaria tenuis,
Mucor racemosus.

---

(1) *Untersuch. über Niedere Pilze*, p. 45, 1882.

Je n'ai pas constaté d'action réductrice avec les deux espèces d'*Aspergillus* et avec le *Botrytis cinerea.*

D'après l'opinion que j'ai rappelée à la page 37, la réduction des nitrates coïncide avec l'état de vie anaérobie. Or, parmi les moisissures qui peuvent faire cette réduction, il n'y a que le *Mucor racemosus* qui résiste pendant un temps assez long à la privation d'oxygène. Mais il n'est pas nécessaire que toute la plante se trouve dans cet état pour enlever l'oxygène aux nitrates. Il suffit que des portions du mycélium, comme les filaments développés dans la profondeur du liquide, soient soustraits à l'action de l'oxygène pour provoquer des phénomènes de réduction (¹).

Paris, laboratoire de chimie biologique de la Sorbonne, à l'Institut Pasteur.

(¹) L'observation suivante concorde parfaitement avec cette opinion. Lorsqu'on cultive comparativement le *Penicillium glaucum* dans une solution minérale avec du sulfate d'ammoniaque, et dans une autre avec nitrate de sodium, l'aspect du mycélium n'est pas identique dans les deux cultures, bien que le poids de la récolte soit sensiblement le même de part et d'autre. Dans le mélange ammoniacal, les filaments mycéliens sont serrés à la surface du liquide et forment un tissu très lisse à la face inférieure. Au contraire, dans la solution nitrique, le mycélium envoie de petites masses filamenteuses dans la couche liquide sous-jacente. Une telle inégalité de développement du même organisme ne peut s'expliquer que par l'intervention du nitrate dans les phénomènes respiratoires. (Note ajoutée pendant l'impression.)

LA RÉDUCTION
DES
NITRATES EN NITRITES PAR LES GRAINES
ET
LES TUBERCULES
PAR
É. LAURENT (¹)

Schönbein (²) avait signalé autrefois la réduction des nitrates en nitrites par les graines. Comme l'a supposé M. Jorissen (³), il est probable que cette observation n'était pas exacte et qu'il y avait eu, dans les expériences faites par le chimiste allemand, intervention de Bactéries réductrices des nitrates. Toutefois, rien ne permettait de conclure que les plantes supérieures fussent dépourvues de la même propriété physiologique. C'est ce que je faisais remarquer dans une note présentée à l'Académie en 1885 (⁴), et je fondais mon opinion sur quelques essais faits avec des graines d'Orge et de Maïs plongées, pendant la germination, au sein d'une solution de nitrate de potasse.

Dans une deuxième note (⁵), M. Jorissen assurait que « la trans-

---

(¹) Ce travail a paru dans le *Bulletin de l'Académie royale de Belgique,* 3ᵉ série, t. XX, nº 11, pp. 478-485, 1890.

(²) *Journal für praktische Chemie,* Bd CV, p. 214, 1868.

(³) *Bulletin de l'Académie royale de Belgique,* 3ᵉ série, t. VIII, p. 550, 1884.

(⁴) *Id.,* 3ᵉ série, t. X, p. 38, 1885.

(⁵) *Id.,* t. X, p. 583.

formation des nitrates en nitrites, telle qu'elle a été observée jusqu'à présent pendant l'imbibition des graines, n'est pas autre chose qu'un cas particulier de la fermentation putride ».

Je n'avais pas le moindre doute relativement à l'absence complète de Bactéries dans les solutions de nitrate qui avaient été, sous mes yeux, le siège de phénomènes réducteurs provoqués par des graines en germination. Cependant, je l'avoue, la valeur du réactif iodé que j'avais employé est assez contestable pour caractériser les nitrites. Pour ce motif, je me décidai, en mai 1887, à répéter mes essais et à faire usage de réactifs plus parfaits.

Des graines de Maïs furent plongées dans l'eau tiède pour en ramollir les téguments. Dans deux larges tubes à essais, stérilisés à 180°, j'introduisis quinze de ces graines et je les immergeai aussitôt dans une solution à 1 °/₀₀ de bichlorure de mercure. Au bout de quinze minutes, elles furent lavées à deux reprises avec de l'eau stérilisée par la filtration sur la porcelaine; un peu d'eau fut conservé au fond des tubes pour éviter la dessiccation des graines.

Dans chaque tube quelques graines ne germèrent pas; elles avaient été tuées par le sublimé.

Lorsque les tigelles avaient 1 à 2 centimètres de longueur, je versai au fond des tubes une solution de nitrate de potassium à 1 °/₀. Vingt-quatre heures après, je fis l'essai des nitrites au moyen des trois réactifs suivants, préparés d'après les indications données par M. Warington (¹) :

Le réactif iodé;

La métaphényline diamine;

Le chlorure de naphtylamine en présence des acides chlorhydrique et sulfanilique.

Ces trois réactifs indiquèrent la présence de nitrites dans les liquides que renfermaient les deux tubes avec grains de Maïs. Afin de m'assurer de l'absence de Bactéries dans ceux-ci, je mélangeai quelques gouttes du liquide avec de la gélatine nutritive bien neutre. Elle demeura parfaitement stérile.

(¹) *Chemical News*, 23 janvier 1885.

J'aurais pu communiquer ce résultat à l'Académie beaucoup plus tôt; j'ai cru qu'il valait mieux multiplier les observations, les répéter sur différentes espèces et dans des conditions variées. Car, dans les questions de biologie, l'étude comparée d'un certain nombre d'organismes est singulièrement instructive pour l'expérimentateur lui-même.

Mes nouvelles recherches sur la réduction des nitrates par les végétaux ont porté sur les graines, les tubercules, les tissus charnus et les sucs des plantes vasculaires, ainsi que sur un certain nombre de moisissures et de levures. Les résultats fournis par ces Champignons ont été précédemment communiqués à l'Académie.

Des réactifs de l'acide nitreux indiqués plus haut, je n'ai plus employé que le troisième, qui est de beaucoup le plus caractéristique.

Il consiste dans l'addition successive, au liquide à essayer, d'acide sulfanique, d'acide chlorhydrique et de chlorure de naphtylamine. Dans les solutions qui contiennent moins d'un cent-millième d'acide nitreux, une goutte ($^1/_{20}$ de centimètre cube) d'acide chlorhydrique à 10 $^0/_0$ et trois gouttes des deux autres corps dissous à saturation dans l'eau déterminent l'apparition d'une coloration rose plus ou moins foncée et persistante. Dans les solutions plus concentrées, il convient d'ajouter une quantité d'acide sulfanilique et de chlorure de naphtylamine d'autant plus grande qu'il y a plus d'acide nitreux en présence. Sans cette précaution, la coloration diminue d'intensité ou disparaît après un temps assez court.

De l'avis de beaucoup de chimistes, les réactions colorées n'ont qu'une valeur relative, surtout lorsqu'elles se passent dans un milieu aussi complexe que la matière vivante. Pour faire droit à cette objection, dont je suis loin de méconnaître la portée, j'ai toujours eu soin de faire, à côté des expériences de réduction par les tissus végétaux, des essais avec les mêmes tissus plongeant dans l'eau distillée. Toute différence dans les réactions de la solution nitrique et de l'eau pure ne pouvait provenir que de la présence du nitrate et, dans le cas actuel, je me trouvais en droit de l'attribuer à la réduction de ce même nitrate.

Pendant l'été de 1889, j'ai eu l'occasion de faire un grand nombre d'essais de réduction des nitrates par les graines. Celles-ci étaient stérilisées par l'immersion dans une solution de sublimé et elles germaient dans de longs tubes à essais, chauffés au préalable à 180°. Lorsque les tigelles avaient atteint 1 à 6 centimètres de longueur, je versais dans les tubes une solution de nitrate de potassium, de sodium ou de calcium à 1 °/₀, qui ne donnait pas de traces de nitrites (¹). Les solutions renfermées dans des matras-pipettes peuvent être aisément introduites dans des tubes contenant les graines, sans y apporter de germes. Lorsqu'il n'en est pas ainsi, la solution ne tarde pas à se troubler par suite du développement des microbes ; ceux-ci se nourrissent de substances organiques que les graines ont laissé diffuser. Le plus souvent, les tubes en expériences étaient placés à l'étuve à 30-35°, température favorable, à la fois, à la vie des graines en germination et à celle des Bactéries.

Mes essais ont été faits avec des graines de Maïs, d'Orge, de Pois, de Lupin blanc, de Fève et de Haricot. C'est avec le Pois que les phénomènes réducteurs sont le plus actifs. Des graines de cette espèce, en germination, immergées dans la solution de nitrate de potassium à 1 °/₀, permettent d'observer la formation de nitrite au bout d'une heure. Ce temps est encore diminué lorsqu'on fait le vide ou lorsqu'on remplace l'air par un gaz inerte. L'hydrogène convient mieux que l'anhydride carbonique, qui semble ralentir les actions réductrices provoquées par les tissus végétaux. Des plantules de Pois, plongées dans le vide et placées à la température de 15°, réduisent les nitrates avec une activité telle que l'on peut constater la présence de nitrite une demi-heure après l'immersion.

Au contraire, il n'y a pas réduction des nitrates lorsque la solution qui les contient se présente en couche peu épaisse et offre une grande surface d'aération pour un très petit volume de liquide.

(¹) J'insiste expressément sur ce point. La plupart des eaux distillées et conservées dans les laboratoires contiennent des quantités notables de nitrates et de nitrites. Il en est de même des nitrates conservés, à l'état solide, dans des bocaux exposés à la lumière.

C'est ce que l'on obtient lorsqu'on met des graines dans un vase à fond plat, sous une très faible couche de solution de nitrate.

Il me paraît bien difficile d'interpréter ces faits sans admettre que ce sont les graines qui enlèvent au nitrate une partie de l'oxygène nécessaire à leurs phénomènes respiratoires. La quantité d'oxygène ainsi absorbé, sans être excessive, n'est pas négligeable.

J'ai vu quarante-cinq graines de Pois, germées, plongées dans 30 centimètres cubes de la solution nitrique, donner, après quatre heures, une réaction nitreuse équivalente à celle d'une solution de $0^{\text{gr}}03$ de nitrite de potassium dissous dans 30 centimètres cubes d'eau ($1\ {}^{\circ}/_{\circ\circ}$). Ce chiffre correspond à $0^{\text{gr}}00565$ d'oxygène absorbé, c'est-à-dire à un volume d'environ 4 centimètres cubes.

Je me suis assuré que, pour le Pois, le pouvoir réducteur est, à poids égal, plus accentué dans les cotylédons que dans les jeunes embryons en voie de croissance. Cependant, lorsque les plantules ont atteint une dizaine de centimètres de longueur, les tiges et les racines produisent des nitrites tout aussi activement que les cotylédons.

Le pouvoir réducteur des tubercules n'est pas moins facile à mettre en évidence que celui des graines en germination. Il est manifeste lorsqu'on immerge dans une solution de nitrate, contenue dans un tube à essai, de minces fragments de Pomme de terre récemment récoltée. Une heure suffit pour obtenir la réaction des nitrites. On n'en voit pas de trace si les fragments sont placés dans un cristalloir sous une couche peu épaisse de solution nitrique.

J'ai également observé la réduction du nitrate de potassium en nitrite avec les tubercules de Topinambour, de Radis, de Navet, de Chicorée à café, de Betterave, de Chou-rave, de *Stachys tuberifera*, les pétioles de feuilles de Chou, de Laitue, de Bette, de Céleri et de Raifort, les tiges de *Chenopodium Quinoa*, d'*Impatiens Balsamina Roylei*, d'*Amarantus melancholicus*, les pédoncules du fruit de la Courge, les jeunes fruits de Tomate et de Piment.

Comme je l'ai dit précédemment, j'avais soin de faire, pour chaque espèce, un essai de contrôle en plongeant les tissus, mis en expérience, dans l'eau distillée. Dans ces conditions, les tubercules de Pomme de terre et de Radis donnèrent d'une manière assez nette la réaction de l'acide nitreux. Ce résultat s'explique par la présence d'une certaine quantité de nitrate dans les tissus de ces deux espèces. Je m'en suis assuré avec la diphénylamine.

Enfin, on peut, par un chauffage convenable ou par immersion dans l'alcool ou le chloroforme, tuer les cellules sans en faire disparaître complètement le pouvoir réducteur à l'égard des nitrates. Je me borne aujourd'hui à signaler ce fait; il conduit à supposer qu'il existe dans les tissus végétaux des substances spéciales douées de propriétés réductives. C'est une opinion que je compte développer dans un prochain travail.

Les expériences résumées dans cette note confirment les conclusions auxquelles j'étais arrivé en 1885, à la suite de mes recherches sur le même sujet :

1° *Les graines en germination et les tubercules*, et je puis maintenant ajouter, *un grand nombre d'autres tissus végétaux, sont capables de réduire les nitrates en nitrites.*

2° *La réduction des nitrates en nitrites par les végétaux est, comme la fermentation alcoolique, une conséquence de la vie qui se continue dans un milieu privé d'oxygène à l'état libre.*

RÉDUCTION

DES

NITRATES PAR LA LUMIÈRE SOLAIRE

PAR

É. LAURENT (1)

M. Stas m'a fait l'honneur de répéter mes essais sur la réduction des nitrates par la lumière solaire (2). L'éminent chimiste veut bien admettre l'exactitude de mes observations, mais il met en doute la légitimité des conclusions que j'en avais déduites. M. Stas est d'avis qu'*une solution d'azotate de potassium insolée se conduit comme si elle contenait un azotite.*

La lecture du rapport si consciencieux fait sur mon travail par M. Stas montre que la divergence de nos opinions résulte à la fois d'essais de vérification entrepris par MM. Stas et Depaire et de la valeur du réactif que j'ai employé pour caractériser les nitrites.

Je crois opportun de rappeler que, dans tous mes essais faits en 1887, 1889 et 1890, j'ai toujours vu les solutions de nitrates *stérilisées soigneusement* donner la réaction des nitrates après une insolation de quelques jours. Au contraire, les mêmes solutions conservées pendant des mois à l'obscurité ne se coloraient pas sous l'influence des réactifs de l'acide nitreux.

Je ne me suis pas borné à quelques essais, mais j'en ai préparé des dizaines; j'avais toujours soin de mettre, à côté, des essais-témoins avec de l'eau distillée *bien pure*. Au soleil le plus ardent, celle-ci ne donne *jamais* la moindre coloration avec l'acide sulfanilique et le chlorure de naphtylamine.

---

(1) Ce travail a paru dans le *Bulletin de l'Académie royale de Belgique,* 3e série, t. XXI, no 3, pp. 337-345, 1891.

(2) *Bulletin de l'Académie royale de Belgique,* 3e série, t. XX, p. 303.

Il me paraît tout à fait nécessaire d'insister sur la pureté de l'eau distillée employée dans ce genre de recherches. En effet, les eaux distillées que l'on rencontre dans beaucoup de laboratoires où l'on consomme une assez grande quantité de gaz d'éclairage, renferment des combinaisons nitreuses et nitriques. Il y a plus : de l'eau distillée avec soin et complètement privée de nitrite et de nitrate fut exposée en grande surface dans le laboratoire, à une époque où l'atmosphère de celui-ci ne pouvait pas être viciée par des dégagements gazeux quelconques. Après vingt-quatre heures, une légère réaction nitreuse fut constatée; elle était plus marquée trois jours plus tard.

Je rappellerai aussi que plusieurs moisissures et des Bactéries sont capables de réduire les nitrates. Grâce aux substances nutritives renfermées dans les germes, ces microbes parviennent à se développer dans des solutions en apparence privées de substances organiques, pour peu que l'on néglige les moindres précautions nécessaires.

Enfin, je tiens à mettre à l'abri de toute contestation la valeur du chlorure de naphtylamine et de l'acide sulfanilique comme réactifs des nitrites. Car c'est là un point fondamental, non seulement pour mes recherches actuelles, mais aussi pour celles sur la réduction des nitrates par les végétaux.

Quoi que l'on fasse, de minimes proportions (moins de $^1/_{100\,000}$) de nitrite ne peuvent être mises en évidence que par des réactions colorées. M. Stas estime qu'elles ne sont pas suffisantes; cette opinion est certes bien justifiée toutes les fois que des substances complexes, mal connues, se trouvent en présence du liquide que l'on soupçonne contenir des nitrites. Mais je ne me suis servi que de solutions de nitrates dans l'eau distillée.

Le raisonnement ne peut toutefois suffire à emporter les convictions dans des questions de ce genre : une expérience bien faite est absolument nécessaire, et, seule, elle est décisive.

J'ai cru que, pour démontrer la réduction des nitrates au soleil, le mieux était de recueillir l'oxygène qui provient de la transformation du nitrate en nitrite. Tel est le problème que je me suis proposé de résoudre pendant le séjour que j'ai fait cette année au laboratoire de chimie biologique de la Sorbonne, à l'Institut Pasteur.

Après plusieurs essais avec des appareils compliqués, je me suis arrêté à un procédé assez simple pour que chacun puisse répéter l'expérience sans grande difficulté.

J'ai choisi six matras à longs cols, que j'ai étirés en pointe effilée. Dans trois de ces vases, j'ai introduit 200 centimètres cubes d'une solution de nitrate de sodium à 10 °/₀; trois autres ont reçu une même quantité de nitrate de potassium à la même concentration. J'avais eu soin de constater l'absence de nitrite dans ces solutions.

Tous ces matras ont été ensuite chauffés à l'ébullition pendant vingt minutes, afin de les purger d'air au moyen de la vapeur d'eau. L'évaporation a réduit le volume à un peu moins de la moitié du volume primitif; une mesure ultérieure a indiqué environ 90 centimètres cubes dans chacun des matras. Tous ont été ensuite fermés à la lampe et donnaient d'une manière très nette le bruit du marteau d'eau, caractéristique du vide.

J'estime que les matras étaient stérilisés par l'ébullition prolongée à laquelle je les avais soumis. Néanmoins, pour dissiper tout soupçon, je les ai mis à l'autoclave (à 120°) pendant un quart d'heure.

Deux des appareils ainsi préparés ont été placés à l'obscurité complète, et les quatre autres ont été suspendus sur une terrasse située dans le jardin de l'Institut et qui reçoit les rayons solaires durant toute la journée. C'était le 27 juillet 1890. A côté de ceux-ci je plaçai un matras contenant de l'eau distillée soumise à une ébullition de même durée que les solutions de nitrates; le matras avait été fermé à la lampe et stérilisé; il donnait aussi le bruit du marteau d'eau.

Quelle ne fut pas ma satisfaction, à la fin de la première semaine d'insolation, de constater que, dans les ballons avec nitrates insolés, le bruit de l'eau tombant dans le vide était devenu moins prononcé, tandis qu'il avait gardé toute sa netteté dans les matras laissés à l'obscurité et dans celui qui contenait de l'eau distillée! Cette différence ne fit que s'accentuer par la suite. Et lorsqu'on retournait les ballons avec nitrates au soleil de manière à faire tomber l'eau sur la pointe, on voyait une bulle de gaz qui, emprisonnée d'abord dans le col, remontait vers la surface libre.

A la fin du mois d'août, c'est-à-dire après un mois, les matras insolés avec nitrates ne présentaient plus du tout le bruit du marteau d'eau.

Toutefois, l'expérience a été continuée jusqu'au 24 septembre; à cette époque, tous les matras furent rapportés au laboratoire et placés à l'obscurité. L'insolation s'était donc prolongée durant à peu près deux mois, pendant lesquels le ciel fut rarement couvert, et le soleil souvent assez ardent.

A la fin du mois de septembre dernier, j'ai eu le plaisir de montrer les faits ci-dessus indiqués à M. L. Errera, qui m'a autorisé à invoquer son témoignage.

Il s'agissait d'étudier la nature du gaz qui s'était dégagé dans les quatre matras insolés avec nitrates. Je résolus d'y faire le vide au moyen d'une trompe à mercure de M. Schloesing. Trois de ces matras ont subi des avaries par suite d'accidents survenus pendant les manipulations : les extrémités étirées, des plus fragiles, se brisaient au moindre choc malencontreux. Dans le quatrième matras, qui renfermait du nitrate de sodium, le vide fut fait avec toutes les précautions qu'exige l'extraction de minimes quantités de gaz.

Avant de relier le matras à la trompe au moyen de caoutchouc à vide, j'avais tracé avec la lime un trait sur la partie étirée du col. Entre le matras et la trompe se trouvait un petit flacon bien bouché et plongé dans un récipient contenant de l'eau et de la glace. Ce dispositif provoque la condensation de la vapeur d'eau qui pourrait distiller pendant l'opération. Après avoir fait le vide aussi complet que possible dans la trompe et dans l'appareil, j'ai brisé la pointe effilée du matras et j'ai commencé l'aspiration du gaz renfermé dans celui-ci. Enfin, la solution de nitrate a été chauffée avec de l'eau tiède, de façon à en provoquer l'ébullition.

Le volume du gaz recueilli, ramené à la pression de 760 et à 0°, mesurait $4^{cc}13$. Il n'a pas diminué au contact de la potasse, mais a été absorbé par le pyrogallate de potassium, à l'exception d'une petite bulle d'environ un vingtième de centimètre cube. On sait que l'action du pyrogallate sur l'oxygène pur laisse un léger résidu formé d'oxyde de carbone. Peut-être aussi était-il resté dans le matras une trace d'azote provenant d'un peu d'air qui n'avait pas été chassé par l'ébullition.

L'un des deux matras conservés à l'obscurité fut traité de la même manière que le matras précédent. Aucune trace de gaz ne put en être extraite. L'autre matras conservé à l'obscurité et celui qui avait été insolé et qui contenait de l'eau distillée, ont eu leurs pointes brisées pendant les manipulations. Au reste, il n'y avait aucun intérêt à y faire le vide puisqu'ils donnaient, jusqu'à la fin, le bruit du marteau d'eau.

Une vérité incontestable ressort des essais que je viens de rapporter : *Sous l'influence de la radiation solaire, une solution de nitrate dégage de l'oxygène; par conséquent, il y a réduction du nitrate en nitrite.*

A l'aide du calcul, nous pouvons évaluer la quantité de nitrite qui s'est produite dans le matras insolé et dans lequel j'avais fait le vide. Si l'on admet pour la quantité d'oxygène dégagé le volume de $4^{cc}1$ ($0^{cc}03$ représentant le peu d'air qui a pu rester après l'ébullition), on a pour le poids du nitrite :

$$1{,}42976^{\text{mgr.}} \times 4{,}1 = 5{,}862^{\text{mgr.}} \times \frac{69}{16} = 25{,}28^{\text{mgr.}}$$

Le volume de la solution de nitrate de sodium insolée était, après ébullition, de 90 centimètres cubes; la proportion de nitrate était donc de $\frac{25{,}28}{90\,000}$, soit environ $^1/_{3600}$.

La solution elle-même a été soumise à quelques réactions.

Elle colorait nettement en bleu le papier neutre de tournesol, ce qui s'explique par l'alcalinité des solutions de nitrites.

Avec l'acide sulfanilique et le chlorure de naphtylamine, la coloration rouge était aussi rapide et aussi intense que celle d'une solution de $^1/_{3000}$ de nitrite de potassium.

Le dosage de l'acide nitreux a été effectué par la méthode de M. Chabrier.

L'acide nitreux, mis en liberté par une petite quantité d'acide sulfurique, décompose l'iodure de potassium ; il se produit de l'iode en quantité proportionnelle à l'iodure décomposé. De l'amidon introduit dans la liqueur se colore en bleu. Grâce à cette coloration, on peut doser l'iode au moyen d'une dissolution titrée d'hyposulfite de soude; celle-ci provoque la reformation d'iodure et la disparition de la coloration bleue.

Cette méthode de dosage, appliquée à la solution insolée, a donné 20^{mgr}5 d'acide nitreux, soit 30^{mgr}1 de nitrite de sodium. J'ai vérifié ce chiffre afin de m'assurer de sa constance. Il est supérieur de près de 5 milligrammes au chiffre obtenu en me fondant sur le volume d'oxygène dégagé. Je serais assez porté à croire que cette différence est due à la production d'une certaine quantité d'eau oxygénée dans la solution de nitrate insolée. C'est un point que je me propose d'examiner l'été prochain. Pour aujourd'hui, il me suffit de constater, avec certitude, l'existence de nitrite dans le liquide étudié.

Désireux de ne laisser subsister aucun doute sur le phénomène qui fait l'objet de cette note, j'ai eu recours au réactif signalé par M. Stas dans son rapport (*Bulletin*, 3^e série, t. XX, p. 239). Il consiste dans l'addition d'une solution d'azotate d'argent saturée d'azotate de potassium à la solution à essayer, que l'on a saturée également d'azotate de potassium ou de sodium.

J'ai constaté que les solutions de nitrates de potassium et de sodium insolées pendant deux mois, traitées de la manière indiquée, donnaient un précipité opalescent de nitrate d'argent.

Il n'est peut-être pas sans intérêt de faire remarquer que les réactions de l'acide nitreux ont été essayées, mais sans le moindre succès, avec les solutions de nitrates conservées à l'obscurité et l'eau distillée exposée au soleil à côté des matras avec nitrates.

En présence de ces résultats, je me crois tout à fait fondé à admettre l'action réductrice de la radiation solaire sur les solutions de nitrates.

Je terminerai cette note par les résultats d'essais d'insolation de solutions de nitrate de potassium placées sous des écrans absorbants. C'étaient des solutions d'alun, de sulfate de cuivre ammoniacal, de bichromate de potassium et de sulfate de quinine, en couches de 15 millimètres d'épaisseur. A côté, j'avais disposé un témoin sous une couche d'eau de même épaisseur, et un autre exposé directement aux rayons solaires.

Six tubes, nettoyés très soigneusement, furent mis en expérience le 30 juillet 1890. Après neuf heures d'insolation (de 7 heures du matin à 4 heures du soir), les résultats observés furent les suivants :

1° Sous l'eau et sous l'alun, réaction presque aussi marquée que dans le tube exposé à la lumière directe; elle était presque instantanée et très nette; par comparaison avec une série de solutions préparées, j'évalue la proportion de nitrite à $^1/_{100\,000}$.

2° Sous le sulfate de cuivre ammoniacal, réaction un peu moins prononcée que dans les deux essais précédents; elle n'apparaît qu'après trois minutes.

3° Sous le bichromate de potassium, coloration rose très légère après vingt minutes.

4° Sous la quinine, même coloration à partir de la onzième minute. Ce dernier résultat est conforme à ce que j'avais déjà observé en 1889. (Première note, p. 29 de ce volume.)

Ces diverses observations ont été vérifiées le 2 août, après deux nouveaux jours d'insolation intense. Sous le bichromate et la quinine, la réaction nitreuse était insignifiante.

Il faut conclure de ces résultats que la réduction des nitrates exposés au soleil est due surtout aux rayons les plus réfrangibles du spectre.

DE
L'ACTION DES MOISISSURES SUR L'ALBUMINE

PAR

Émile MARCHAL (1)

INGÉNIEUR AGRICOLE

Les recherches de Nägeli (2) ont montré qu'un grand nombre de Champignons sont capables d'enlever à la fois le carbone et l'azote dont ils ont besoin aux substances albuminoïdes.

Mais elles n'ont pas indiqué d'une façon précise quelles sont les modifications que subit l'albumine sous l'action de ces microbes.

C'est pourquoi il m'a paru intéressant de rechercher si les Champignons, les moisissures notamment, sont susceptibles d'oxyder les substances protéiques, de les transformer en composés minéraux simples : ammoniaque ou acide nitrique.

Dans une première série d'expériences, j'ai fait usage de solutions à 10 °/₀ de blanc d'œuf, sans aucune addition de substances nutritives, et stérilisées par le procédé indiqué dans ce même bulletin (3).

Les liquides ainsi obtenus sont très alcalins; le réactif de Nessler montre qu'ils ne renferment aucune trace d'ammoniaque.

---

(1) Cette note a paru dans le *Bulletin de la Société belge de Microscopie,* t. XIX, 1893. Nous en donnons ici un résumé.

(2) NÆGELI, *Untersuchungen über niedere Pilze.*

(3) Cette note paraît aussi dans le volume du Recueil.

Un certain nombre de moisissures ont été ensemencées dans des ballons Pasteur renfermant 15 centimètres cubes de liquide albumineux.

Ce milieu étant très favorable au développement des Bactéries, il était indispensable de partir d'une semence absolument pure. Dans ce but, bien que les cultures mères fussent déjà sans mélange, on fit des ensemencements sur des plaques de gélatine nutritive (jus de pruneau + 10 °/₀ de gélatine).

La semence fut de cette façon prise dans des colonies tout à fait pures.

C'est là un point capital qui a été trop souvent négligé dans les recherches sur la nutrition des Champignons.

Les expériences de Nägeli elles-mêmes sont loin d'être, à cet égard, à l'abri de toute critique.

Les cultures ont été placées, pendant quinze jours, dans un thermostat, à la température de 20°.

Après ce temps, on a recherché, dans les liquides de culture, l'ammoniaque, par le réactif de Nessler; les nitrates, par la diphénylamine et l'acide sulfurique.

Le tableau suivant indique les résultats obtenus.

ESPÈCES.	ÉTAT DE LA CULTURE.	ESSAIS CHIMIQUES.
Acrostalagmus cinnabarinus .	Développement normal.	Ammoniaque sans nitrates.
Aspergillus flavescens . . .	Id.	Id.
— *fumigatus*. . .	Id.	Id.
— *glaucus* . . .	Mycélium faible.	Pas d'ammoniaque.
— *terricola sp. nov.*. .	Développement normal.	Ammoniaque sans nitrates.
Botryotrichum piluliferum .	Id.	Id.
Botrytis cinerea.	Id.	Id.

ESPÈCES.	ÉTAT DE LA CULTURE.	ESSAIS CHIMIQUES.
Botrytis Bassiana	Développement normal.	Ammoniaque sans nitrates.
Cephalothecium roseum	Id.	Id.
Circinella umbellata	Formes-levures.	Id.
Fusoma alba	Id.	Id.
Fusarium rubrum	Mycélium abondant.	Id.
Isaria farinosa	Développement normal.	Id.
Mucor corymbifer	Id.	Id.
— *spinosus*	Formes-levures.	Id.
— *plumbeus*	Id.	Id.
— *racemosus*	Id.	Id.
Mycogone rosea	Développement normal.	Id.
Oospora grandiuscula	Mycélium faible.	Pas d'ammoniaque.
— *spec.*	Développement normal.	Ammoniaque sans nitrates.
Penicillium glaucum	Développement très faible.	Pas d'ammoniaque.
— *cladosporioïdes*	Développement normal.	Ammoniaque sans nitrates.
— *spec. 1*	Id.	Id.
— *spec. 2*	Id.	Id.
Sporotrichum globulifer	Id.	Id.
Stachybotrys alternans	Id.	Id.
Stemphylium spec.	Id.	Id.
Streptothrix Foersteri	Id.	Id.
Syncephalastrum elegans	Mycélium faible.	Pas d'ammoniaque.
Trichoderma viride	Développement normal.	Ammoniaque sans nitrates.

Des ballons témoins, placés dans les mêmes conditions, n'ont présenté aucune trace d'ammoniaque ni de nitrates.

L'examen de ce tableau suggère les conclusions suivantes :

1° *La plupart des moisissures sont capables d'utiliser l'albumine et de lui emprunter à la fois le carbone et l'azote dont elles ont besoin.*

2° *Un grand nombre de moisissures jouissent de la propriété de transformer l'albumine en ammoniaque.*

Dans quelle mesure les moisissures transforment-elles l'albumine en ammoniaque ?

Pour répondre à cette question, j'ai ensemencé dans des ballons renfermant 50 centimètres cubes de solution albumineuse les espèces suivantes : *Aspergillus terricola*, *Botryotrichum piluliferum*, *Cephalothecium roseum*, *Stemphylium spec.*, *Streptothrix Foersteri.*

Un dosage d'azote effectué par le procédé Kjeldahl a montré que la solution employée renfermait 1gr365 d'azote albuminoïde par litre.

Après quinze jours de culture à 18°, les quantités d'ammoniaque produites ont été déterminées dans l'appareil de M. Schloesing.

Voici les résultats obtenus :

	Azote ammon. dans 50 c. c.	Azote ammon. par litre.
Aspergillus terricola	21,6 milligr.	0,432 gr.
Botryotrichum piluliferum	16,2 —	0,324 —
Cephalothecium roseum	25,1 —	0,502 —
Stemphylium spec.	3,6 —	0,072 —
Streptrothrix Foersteri	14,1 —	0,282 —

On voit donc que certaines espèces, notamment l'*Aspergillus* et le *Cephalothecium*, ont converti en ammoniaque plus du tiers de l'azote organique mis à leur disposition.

3° *Les moisissures sont incapables d'amener l'azote albuminoïde à l'état d'azote nitrique.*

Dans aucune des cultures, la diphénylamine n'a révélé la présence de nitrates; la réaction microchimique faite sur les filaments et les spores n'a également donné aucun résultat.

J'ai voulu m'assurer que, cultivées dans des solutions de sels ammoniacaux, ces moisissures ne donnent pas non plus lieu à production de nitrates.

Dans ce but, un certain nombre d'espèces ont été ensemencées dans des ballons Pasteur contenant le liquide nutritif suivant :

Eau	1000 c. c.
Glycose	10,0 gr.
Sulfate d'ammoniaque	1,0 —
Phosphate acide de potassium	1,0 —
Chlorure de potassium.	0,5 —
Sulfate de magnésium	0,5 —

Les espèces essayées : *Botryotrichum piluliferum*, *Aspergillus flavescens, fumigatus, terricola*, *Cephalothecium roseum*, *Stemphylium spec.*, se sont développées, mais n'ont présenté de nitrates, ni dans les liquides de culture, ni dans leurs filaments ou leurs spores.

Les moisissures sont donc incapables de nitrifier l'ammoniaque.

D'après les recherches les plus récentes, cette propriété semble d'ailleurs être localisée chez un groupe très restreint de microbes. Toutes les Bactéries, ferments ammoniacaux, que j'ai isolées du sol, sont dépourvues de propriété nitrifiante.

Institut botanique de Bruxelles, janvier 1893.

SUR

LA PRODUCTION DE L'AMMONIAQUE DANS LE SOL

PAR LES MICROBES

PAR

Émile MARCHAL (1),

INGÉNIEUR AGRICOLE.

1. Les recherches de ces dernières années ont montré la part immense qui revient aux microbes dans la nutrition des plantes.

Les expériences de Duclaux (2), de Laurent (3) ont fait voir qu'en milieu stérilisé les végétaux supérieurs tirent très difficilement parti des matières organiques qui proviennent des débris végétaux et animaux et constituent l'humus.

Grâce aux microbes, ces substances sont dans le sol peu à peu minéralisées, transformées en composés simples, minéraux, facilement assimilables pour les plantes.

Cette minéralisation porte à la fois sur les trois groupes de substances auxquels on peut rapporter l'immense variété des productions organiques en tant qu'elles jouent un rôle physiologique important : les hydrates de carbone, les matières grasses et les substances azotées.

---

(1) Ce travail a paru dans le *Bulletin de l'Académie royale de Belgique*, 3e série, 1893, t. XXV, no 6, pp. 727-771.

(2) DUCLAUX, *Sur la germination en sol riche en matière organique mais exempt de microbes.* (COMPTES RENDUS, t. C, p. 68.)

(3) LAURENT, *Les microbes du sol. Recherches expérimentales sur leur utilité pour la croissance des végétaux supérieurs.* (BULLETIN DE L'ACADÉMIE ROYALE DE BELGIQUE, 1886, t. XI, p. 128.)

Les hydrates de carbone sont rapidement oxydés par les moisissures, les levures et les bactéries du sol, en acide carbonique et en eau. Le processus d'oxydation des matières grasses est resté jusqu'ici plus obscur ; d'après Duclaux, elles seraient tout d'abord saponifiées par voie purement chimique et les produits de cette saponification (glycérine, savons) seraient alors comburés par les microbes.

2. Quant aux substances azotées qui, au point de vue agricole, nous intéressent surtout, le retour de leur azote à l'état minéral constitue le phénomène auquel, dans son ensemble, Schloesing et Muntz (1) ont donné le nom de *nitrification*.

Les travaux récents de P. Frankland (2), de Warington (3) et surtout les belles et minutieuses études de Winogradsky (4) ont précisé d'une façon remarquable nos connaissances à ce sujet, et nous savons aujourd'hui que la transformation de l'azote organique en nitrates constitue un phénomène complexe et s'accomplit en plusieurs phases auxquelles président des agents particuliers :

1° La transformation de l'azote organique en ammoniaque ou *ammonisation*, comme on pourrait l'appeler.

2° L'oxydation de l'ammoniaque en acide nitreux. D'après Winogradsky, elle se produit sous l'influence d'organismes incapables de s'attaquer à la matière organique dont ils redoutent même la présence.

---

(1) Schloesing et Muntz, *Recherches sur la nitrification*. (Comptes rendus, t. LXXX et suiv.)

(2) P. Frankland, *Ueber einige typische Microorganismen im Wasser und im Boden*. (Zeitschrift f. Hygiene, t. VI, p. 373.)

(3) Warington, *Journal of the chemical Society*, 1879 et années suiv.

(4) Winogradsky, *Recherches sur les organismes de la nitrification*. (Annales de l'Inst. Pasteur, 1890 et 1891.)

Enfin 3° la transformation de l'acide nitreux en acide nitrique, terme final de ce processus de minéralisation.

Comme le fait M. le professeur Errera dans son cours, on peut désigner ces deux derniers phénomènes respectivement sous les noms de *nitrosation* et de *nitratation*.

C'est à l'étude des organismes de l'ammonisation qu'est consacré le présent travail.

Il est nécessaire de distinguer dès maintenant la production d'ammoniaque aux dépens de la matière organique de celle qui résulte de l'hydratation de l'urée (fermentation ammoniacale de l'urée) ou de la réduction des nitrates (dénitrification) sous l'influence des microbes étudiés pour la première fois par Gayon et Dupetit.

3. L'ammonisation est donc le phénomène primaire à la faveur duquel l'azote des substances organiques retourne progressivement à l'état minéral. Les ferments ammoniacaux préparent le terrain aux ferments nitreux et nitriques.

De plus, dans certaines conditions où, par suite de l'acidité du milieu, la production de nitrates est rendue impossible (dans l'humus des forêts, le sol des landes, etc.), la minéralisation de l'azote organique s'arrête au stade ammoniaque.

Les produits de l'activité des microbes ammonisants peuvent servir directement comme source d'azote à la nutrition des plantes, les recherches de Muntz (1), de Laurent (2), de Griffiths (3) ayant montré que, même en sol stérilisé, les sels ammoniacaux sont assimilables par les végétaux.

On a souvent, mais à tort, ramené la production d'ammoniaque dans le sol à la seule hydratation de l'urée. Mais, comme l'a dit Duclaux (1), toutes les fermentations ammoniacales du sol ne sont pas des fermentations de l'urée; on peut même ajouter que, dans les conditions de culture habituelles, l'urée des déjections animales arrive au sol complètement hydratée, cette décomposition commençant déjà à l'étable pour s'achever dans le tas de fumier ou la citerne à purin.

---

(1) MUNTZ, *Sur le rôle de l'ammoniaque dans la nutrition des végétaux*. (COMPTES RENDUS, t. CIX, p. 646.)

(2) LAURENT, *Recherches sur la valeur comparée des nitrates et des sels ammoniacaux comme aliments de la levure de bière et de quelques autres végétaux*. (ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR, 1889, p. 362.)

(3) GRIFFITHS, *Chemical News*, 1891, t. LXIV, p. 147.

Le *Micrococcus ureae* ou, d'une manière plus générale, les *urobactéries* de Miquel (2) sont donc loin de constituer les agents essentiels de la production de l'ammoniaque dans le sol.

4. Une première question se pose ici. La production d'ammoniaque dans la terre arable doit-elle être exclusivement attribuée à des microbes? Ne peut-elle s'accomplir sous l'influence de facteurs purement chimiques?

Des expériences récentes de Muntz et Coudon (3) ont démontré qu'un sol stérilisé, enrichi à l'aide de sang desséché, par exemple, ne présente aucune formation d'ammoniaque, tandis que la même terre, pourvue de microbes, en produit abondamment.

Des essais similaires m'ont conduit aux mêmes résultats.

Voici les conditions expérimentales dans lesquelles je me suis placé.

Dans deux ballons contenant 250 grammes d'une terre ne renfermant que des traces d'ammoniaque, il était ajouté 25 centimètres cubes de la solution albumineuse incoagulable dont il sera parlé plus loin. Les récipients de culture ainsi préparés étaient stérilisés à l'autoclave, pendant une heure, à 115°. Après refroidissement, l'un d'eux était ensemencé avec quelques gouttes du liquide trouble obtenu en délayant un peu de terre de jardin dans de l'eau stérilisée, l'autre ne recevait aucun germe.

---

(1) DUCLAUX, *Les microbes du sol. Revue critique.* (ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR, 1887, p. 246.)

(2) MIQUEL, *Études sur la fermentation ammoniacale et sur les ferments de l'urée.* (ANNALES DE MICROGRAPHIE, 1890, 1891, 1892.)

(3) MUNTZ et COUDON, *La fermentation ammoniacale de la terre.* (COMPTES RENDUS, février 1893.)

Après vingt jours de séjour dans la chambre thermostatique chauffée à 30°, j'ai dosé l'ammoniaque par distillation sur la magnésie dans l'extrait chlorhydrique des deux terres.

Les chiffres suivants furent obtenus :

1. Ballon stérile	traces d'ammoniaque.
2. Ballon avec microbes du sol . .	34,2 milligr.

La nécessité de l'action des microbes apparaît nettement ici.

5. Quelles sont, parmi les nombreuses espèces microbiennes qui peuplent les couches superficielles du sol, celles qui interviennent d'une façon prépondérante dans l'ammonisation ? Sont-ce des moisissures, des formes bourgeonnantes ou des bactéries ?

Il s'agissait pour résoudre ces questions :

1° D'isoler du sol les espèces microbiennes (moisissures, formes-levures, bactéries) qui y sont les plus fréquentes;

2° De rechercher celles d'entre elles qui sont susceptibles de transformer les substances azotées en ammoniaque.

Pour l'isolation des microbes du sol, j'ai eu recours à la méthode de séparation de Koch sur gélatine, en cristallisoirs de Petri.

De chaque échantillon de terre, il était fait au moins deux cultures, l'une en gélatine alcaline avec bouillon et peptone, l'autre en gélatine et jus de pruneaux légèrement acide, pour la recherche des moisissures et des levures.

Ces essais ont porté sur les terres les plus diverses : terres arables, fumées ou non fumées, sablonneuses, humeuses ou calcaires, terres de landes, de forêts, ainsi que sur différents terreaux, composts, fumiers et purins provenant des environs de Bruxelles.

Ces très nombreuses cultures sur plaque m'ont fourni plus de trente espèces bactériennes et une vingtaine de moisissures et de formes-levures.

Au nombre des bactéries les plus fréquentes dans la terre arable, je citerai : *Bacillus mycoïdes* Flügge, *fluorescens liquefaciens* Flügge, *fluorescens putidus* Flügge, *janthinus* Zopf, *mesentericus vulgatus* Flügge, *mesentericus ruber* Globig, *termo* Dujardin, *Proteus vulgaris* Häuser, une Sarcine très analogue à la *Sarcina lutea* Schröter, et quelques *Micrococcus : Micrococcus roseus* Flügge, *luteus* Schröter, *flavus* Flügge, *candicans* Flügge.

Moins constantes sont les formes suivantes : *Bacillus arborescens* Frankland ; un Bacille à colonies formées de filaments droits ou élégamment spiralés que je rapporte au *Bac. figurans* décrit par Crookshank (¹), le *Bac. subtilis,* moins fréquent qu'on pourrait le supposer dans le sol, un Bacille court, analogue au *Micrococcus prodigiosus*, produisant à 30° dans les solutions albumineuses une matière colorante rouge d'une rare intensité ; une forme du *Bac. coli communis, Bac. brunneus* Schröter, *cremoïdes* Zimmermann ; quelques *Micrococcus* parmi lesquels le *Micrococcus ureae* Van Tieghem ; enfin, un assez grand nombre de formes que je ne suis pas parvenu jusqu'ici à identifier avec des types décrits, et que je ferai connaître dans un mémoire ultérieur.

Au nombre des moisissures se trouvaient notamment : *Penicillium glaucum, cladosporioïdes, Mucor Mucedo, racemosus, Botrytis cinerea, vulgaris*, divers *Stemphylium, Cladosporium* et états polymorphes *Alternaria tenuis*, des *Aspergillus*, dont une espèce nouvelle intéressante que j'ai appelée *Aspergillus terricola* (²) ; nombre de formes bourgeonnantes, formes *Torula, Monilia,* etc., le *Streptothrix Foersteri.*

6. Ces espèces microbiennes étant isolées, il s'agissait de déterminer celles qui prennent part à la fermentation ammoniacale. Dans ce but, j'ai pris comme point de départ l'albumine de l'œuf. Les matières albuminoïdes constituent, en effet, de tous les matériaux azotés du sol, ceux qui s'y trouvent en plus grande quantité,

---

(¹) CROOKSHANK, *Manuel pratique de bactériologie,* p. 199.

(²) MARCHAL, *Sur une espèce nouvelle du genre Aspergillus.* (REVUE MYCOLOGIQUE, 1893, n° 3.)

qu'ils proviennent de débris végétaux ou animaux, d'engrais divers, sang desséché, déchets de laine, etc.

Je pensais, d'autre part, que les microbes susceptibles de transformer l'albumine en ammoniaque pourraient *a fortiori* oxyder les autres substances azotées, amines, amides, acides amidés, qui constituent déjà une étape plus avancée dans la voie de la minéralisation. Comme on le verra plus loin, cette hypothèse s'est en grande partie vérifiée.

J'ai donc fait usage de solutions de blanc d'œuf à 10 °/₀, renfermant environ 2 grammes par litre d'azote albuminoïde.

Il était désirable, pour se rapprocher des conditions naturelles, d'employer des solutions albumineuses diluées, la matière organique azotée ne se trouvant dans le *sol arable* qu'en quantités relativement faibles (0^{gr}2 à 3 grammes d'azote organique par kilogramme de terre).

Ces liquides ont été stérilisés par le procédé que j'ai décrit précédemment (¹) et qui consiste à ajouter, par litre de bouillon albumineux, 10 centimètres cubes d'une solution au $^1/_{1000}$ de sulfate ferreux.

La présence de ce sel entravant la coagulation de l'albumine, on peut sans inconvénient stériliser à haute température.

Les liquides ainsi obtenus ne présentent pas trace d'ammoniaque; le réactif de Nessler n'y donne lieu à aucune coloration.

Les bactéries du sol, à l'état de cultures absolument pures, ont été ensemencées dans des ballons Pasteur renfermant une dizaine de centimètres cubes de solution albumineuse.

Ces cultures ont été placées à la chambre thermostatique à 30° pendant quinze jours.

Après ce temps, on a recherché si les liquides de culture renfermaient de l'ammoniaque.

Dans une partie de la liqueur, on essayait la réaction de Nessler; une autre portion était chauffée avec de la magnésie calcinée et

---

(¹) MARCHAL, *Bulletin de l'Académie royale de Belgique,* 1892, t XXIV, p. 323.

l'on recherchait l'alcali volatil dans les vapeurs par le papier de tournesol.

Ces deux essais se sont toujours montrés concordants dans leurs résultats.

La simple coloration en jaune du liquide, ou la formation d'un précipité par le réactif de Nessler, indiquait si la quantité d'ammoniaque produite était insignifiante ou notable.

Les espèces suivantes m'ont présenté une réaction ammoniacale très intense :

Bacillus arborescens.
— *coli communis* var.
— *figurans.*
— *fluorescens putidus.*
— *fluorescens liquefaciens.*
— *mesentericus vulgatus.*
— *mycoïdes.*
— *subtilis.*
— *termo.*

Bacillus janthinus.
— *spec.* 1.
— *spec.* 2.
— *spec.* 3.
— *spec.* 4.
Micrococcus albicans.
Proteus vulgaris.
Sarcina lutea.

Chez la plupart des autres espèces, la réaction, bien que très nette, présentait beaucoup moins d'intensité. Enfin, il en est quelques-unes qui n'en ont pas produit de trace ; de ce nombre est un *Proteus* non liquéfiant, à colonies sur gélatine envahissantes et caractéristiques (*Proteus Zenckeri* de Häuser ?) et un long Bacille liquéfiant la gelée et donnant une culture jaune sur pomme de terre.

Il est à remarquer que l'absence d'ammoniaque correspondait toujours à un développement très faible de l'espèce considérée dans le milieu albumineux, développement qui s'est très probablement effectué aux dépens des petites quantités de principes carbonés et azotés non albuminoïdes que renferme le blanc d'œuf.

On peut donc dire que les bactéries capables d'attaquer la molécule albuminoïde la désorganisent, en brûlent le côté carboné, laissant comme résidu l'ammoniaque.

Nous verrons qu'il en est de même pour les moisissures.

La production d'ammoniaque aux dépens d'albumine, par les bactéries, ne constitue donc pas une fonction propre à quelques organismes, comme le sont la nitrosation et la nitratation ; elle est l'apanage d'un grand nombre de microbes.

Il y a quelques années déjà, Duclaux (¹) a montré que, dans la maturation des fromages, la caséine est transformée en composés ammoniacaux sous l'influence de microbes particuliers ; plus récemment, Perdrix (²) a signalé la production d'ammoniaque dans les cultures de bactéridie charbonneuse ; enfin Bienstock (³) a isolé des fèces plusieurs organismes présentant à un haut degré cette propriété.

En dehors des bactéries du sol, je l'ai observée chez un certain nombre d'espèces tant saprophytes que pathogènes, notamment : *Bacillus anthracis*, *diphteriae*, *cholerae suum*, *tuberculosis avium*, *typhosus*, *megaterium*, chez le Bacille rouge de Kiel, le *Vibrio Metschnikovi*, le *Micrococcus prodigiosus*. Au contraire, le *Bacillus pyocyaneus*, qui se développe très chétivement dans les solutions albumineuses, n'y produit pas d'ammoniaque.

7. J'ai cherché ensuite à déterminer quel était le pouvoir ammonisant particulier de quelques-unes des espèces les plus énergiques. Ces dernières ont été ensemencées dans des ballons renfermant 25 centimètres cubes d'une solution albumineuse dosant par litre $1^{gr}365$ d'azote organique (moyenne de trois dosages concordants effectués par le procédé Kjeldahl).

Les ballons ensemencés ont été placés, pendant vingt jours, à 30°, dans la chambre thermostatique. Après ce temps, on y a dosé l'ammoniaque produite.

Dans ce but, le liquide de culture est introduit avec une pincée (⁴) de magnésie calcinée dans le ballon de l'appareil dis-

---

(¹) DUCLAUX, *Le Lait*, p. 213.

(²) PERDRIX, *Sur la transformation des matières azotées dans les cultures de bactéridie charbonneuse*. (ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR, 1886, p. 354.)

(³) BIENSTOCK, *Ueber die Bacterien der Fäces*. (ZEITSCHRIFT F. KLINISCHE MEDECIN, XIII.)

(⁴) L'ammoniaque se trouvant dans les cultures à l'état de carbonate ammonique, il suffit d'une quantité très faible d'alcali pour la dégager.

tillatoire de Schloesing. Le tableau ci-après présente les chiffres obtenus.

Dans ce tableau, la seconde colonne indique les nombres obtenus directement par l'analyse des 25 centimètres cubes de culture, la troisième donne les mêmes chiffres rapportés au litre, c'est-à-dire multipliés par 40.

ESPÈCES BACTÉRIENNES.	AZOTE AMMONIACAL dans 25 c. c.	AZOTE AMMONIACAL par litre.	POUR-CENT d'azote organique transformé.
	MILLIGR.	GRAMMES.	
Bacillus arborescens	6,7	0,268	19
— *figurans*	8,0	0,320	23
— *fluorescens putidus* . . .	7,5	0,300	22
— *fluorescens liquefaciens* . .	5,6	0,224	16
— *mesentericus vulgatus* . .	10,1	0,404	29
— *mycoïdes*	16,0	0,640	46
— *subtilis*.	8,1	0,324	23
— *termo*	6,3	0,252	19
— *janthinus*	7,9	0,316	23
— *spec.* 1.	13,5	0,540	39
— *spec.* 2.	7,7	0,308	22
— *spec.* 3.	9,0	0,360	25
— *spec.* 4.	5,5	0,220	16
Proteus vulgaris	12,1	0,484	36
Sarcina lutea	9,5	0,380	27

On voit que, de toutes les Bactéries isolées du sol, le *Bacillus mycoïdes* est celle qui a le plus énergiquement transformé l'albumine en ammoniaque; en vingt jours, près de la moitié de l'azote organique mis à sa disposition est passé à l'état d'alcali volatil.

C'est ce microbe que j'ai choisi pour en étudier d'une façon plus approfondie l'action sur les matières albuminoïdes.

8. Je n'ai parlé jusqu'ici que des Bactéries. Comme je l'ai signalé récemment (¹), la plupart des moisissures jouissent à un haut degré de la propriété de transformer en ammoniaque les substances albuminoïdes, et peuvent, dans certaines conditions, jouer un rôle considérable dans l'ammonisation.

Une trentaine de moisissures et de formes bourgeonnantes, ensemencées dans la solution albumineuse à 10 °/₀, ont donné les résultats consignés dans le tableau suivant :

ESPÈCES.	ÉTAT DE LA CULTURE.	RÉACTION DE NESSLER.
Acrostalagmus cinnabarinus (²).	Développement normal.	Ammoniaque.
Aspergillus flavescens. . . .	Id.	Id.
— *fumigatus* . . .	Id.	Id.
— *glaucus*	Mycélium faible.	Pas d'ammoniaque
— *terricola*	Développement normal.	Ammoniaque.
Botryotrichum piluliferum . .	Id.	Id.
Botrytis cinerea	Id.	Id.
— *Bassiana*.	Id.	Id.
Cephalothecium roseum . . .	Id.	Id.

(¹) MARCHAL, *De l'action des moisissures sur l'albumine*. (BULLETIN DE LA SOCIÉTÉ BELGE DE MICROSCOPIE, 1893, t. XIX, p. 65.

(²) La nomenclature adoptée pour les moisissures dans ce travail est celle du *Sylloge Fungorum* de Saccardo.

ESPÈCES.	ÉTAT DE LA CULTURE.	RÉACTION DE NESSLER.
Circinella umbellata	Formes-levures.	Ammoniaque.
Fusoma alba	Id.	Id.
Isaria farinosa. . . .	Développement normal.	Id.
Mucor corymbifer. . . .	Id.	Id.
— *spinosus*	Formes-levures.	Id.
— *plumbeus*	Id.	Id.
— *racemosus*	Id.	Id.
Mycogone rosea	Développement normal.	Id.
Oospora grandiuscula. . . .	Mycélium faible.	Pas d'ammoniaque.
— *spec.*	Développement normal.	Ammoniaque.
Penicillium glaucum. . . .	Développement très faible.	Pas d'ammoniaque.
— *cladosporioïdes* . .	Développement normal.	Ammoniaque.
— *spec.* 1	Id.	Id.
— *spec.* 2	Id.	Id.
Saccharomyces cerevisiae. . .	Id.	Id.
— *glutinis* . . .	Id.	Id.
Sporotrichum globulifer . . .	Id.	Id.
Stachybotrys alternans . . .	Id.	Id.
Stemphylium spec.	Id.	Id.
Sterigmatocystis dubia . . .	Développement faible.	Pas d'ammoniaque.
— *niger* . . .	Id.	Id.
Streptothrix Foersteri. . .	Développement normal.	Ammoniaque.
Syncephalastrum elegans. . .	Mycélium faible.	Pas d'ammoniaque.
Trichoderma viride.	Développement normal.	Ammoniaque.

Il résulte de ce tableau que toutes les moisissures qui ont présenté dans la solution albumineuse un développement normal, ont donné lieu à la production d'ammoniaque.

Les chiffres suivants, obtenus après quinze jours de culture à la température de 18°, dans une solution albumineuse dosant 1gr365 d'azote organique par litre, donnent une idée du pouvoir ammonisant de quelques-unes des espèces citées plus haut.

ESPÈCES.	AZOTE AMMONIACAL dans 50 c. c.	AZOTE AMMONIACAL par litre.
	MILLIGRAMMES.	GRAMMES.
Aspergillus terricola	21,6	0,432
Botryotrichum piluliferum . .	16,2	0,324
Cephalothecium roseum . . .	25,1	0,502
Stemphylium spec.	3,6	0,072
Streptothrix Foersteri	14,1	0,282

On peut se demander quels sont, des moisissures ou des bactéries, les agents essentiels de l'ammonisation.

Dans la terre arable livrée à une culture intensive, les moisissures n'existent qu'en quantités relativement faibles, grâce à la réaction alcaline du milieu et à l'absence de matière organique en grande quantité. L'action des bactéries y est prédominante.

Dans les sols humeux, acides, au contraire, riches en matières organiques, dans l'humus des forêts, certains terreaux, j'ai rencontré des mycéliums nombreux de moisissures, et il n'est pas douteux qu'elles interviennent activement dans la minéralisation de l'azote organique.

Caractères morphologiques du bacille mycoïde.

9. Le *Bacillus mycoïdes*, Bacille de la terre (*Erde-Bacillus* des auteurs allemands), décrit pour la première fois par Flügge (1), a été signalé depuis par Fränkel (2), qui en a donné également une description sous le nom de *Wurzelbacillus*.

C'est cette espèce que Hueppe et Wood (3) ont rencontrée dans le sol, et qui, d'après leurs recherches, confère au lapin l'immunité contre l'injection de cultures virulentes de bactéridie charbonneuse.

Caractères microscopiques. — Cette intéressante bactériacée se présente sous l'aspect de bâtonnets ordinairement une fois et demie aussi longs que larges, à extrémités nettes et un peu arrondies, rarement isolés, le plus fréquemment réunis en longs pseudo-filaments dont les articles paraissent nettement séparés par un espace clair.

Le Bacille mycoïde produit aisément des spores grosses, ovales, réfringentes, qui occupent la partie médiane des articles.

Les pseudo-filaments sont immobiles, de même que les bâtonnets libres; cependant, dans certaines cultures, j'en ai observé qui étaient animés d'un mouvement pendulaire très lent.

Caractères macroscopiques. — *Culture sur plaques de gélatine.* — Le développement des colonies sur plaques de gélatine est à la fois des plus remarquables et des plus caractéristiques.

Pour bien l'observer, on coule dans une boîte de Petri le contenu d'un tube de gélatine ensemencé à l'aide d'une dilution très faible de culture, de manière à n'obtenir sur la plaque qu'une ou deux colonies.

---

(1) Flügge, *Die Mikroorganismen.*

(2) Frænkel, *Grundriss der Bakterienkunde*, p. 241.

(3) Hueppe et Wood, *Parasitism und Saprophytism.*

Après vingt-quatre heures, à la température de 18° à 20°, la boîte retournée, examinée à l'aide d'un grossissement d'environ 100 diamètres, laisse voir de petites colonies rondes, foncées, granuleuses, à contour très net. Après quelques heures, le contour perd de sa netteté, il s'en détache dans tous les sens des filaments qui forment bientôt, par leur enchevêtrement, un feutrage dense dans lequel a disparu la petite colonie primitive.

A ce stade, ces colonies, examinées à l'œil nu, apparaissent comme un léger nuage blanc sur la gélatine; celle-ci ne présente encore aucune trace de liquéfaction.

Le mode d'extension de ces colonies sur la gelée est très curieux.

La colonie primitive émet, dans plusieurs directions, des faisceaux de filaments droits ou contournés en spirales souvent très régulières. Après quelque temps de croissance dans un sens, ces filaments se pelotonnent sur eux-mêmes, donnant naissance à des colonies secondaires; celles-ci, à leur tour, lancent en tous sens des traînées filamenteuses qui vont, par la fondation de colonies nouvelles, exploiter des surfaces gélatineuses encore vierges.

Une seule colonie peut, de cette façon, recouvrir toute une plaque d'un réseau inextricable de filaments entrecroisés. Mais, en même temps que cette extension se manifeste, la gélatine se liquéfie; c'est tout d'abord le centre de la colonie mère qui se ramollit, s'affaisse et tombe en déliquescence. Cette liquéfaction s'étend circulairement, atteint bientôt les colonies secondaires pour se propager, enfin, le long des traînées filamenteuses, à toute la plaque. Ce résultat n'est atteint qu'après six à sept jours de culture.

Culture par piqûre sur gélatine. — Si l'on inocule un tube de gélatine, par piqûre, avec le Bacille mycoïde, on observe les faits suivants : après deux jours apparaît, dans le canal de la piqûre, un léger enduit blanchâtre, tandis qu'à la surface s'est développée une colonie déjà assez étendue. Bientôt du canal se développent, perpendiculairement et en tous sens, de fins filaments droits qui finissent par atteindre les parois du tube. L'ensemble rappelle alors une jeune radicelle munie de ses poils absorbants. En même temps, la liquéfaction s'opère à la surface, qui se creuse en une cupule remplie d'un liquide limpide dans lequel flotte un flocon duveteux. Cette liquéfaction gagne en profondeur, les étages de filaments s'affaissent de plus en plus, et, après dix à quinze jours, il reste au fond du tube des flocons blancs que surnage la gélatine limpide et liquéfiée.

Culture sur agar en surface. — Sur agar nutritif, le développement est très rapide et caractéristique.

Du trait d'inoculation superficielle partent des traînées filamenteuses constituant des arborescences irrégulières qui s'étendent rapidement à toute la surface de la gelée.

L'agar n'est pas liquéfié.

Culture sur sérum. — Sur sérum solide, en plan incliné, le développement est identique à la culture sur agar, si ce n'est que le sérum est peu à peu liquéfié.

Culture sur pomme de terre. — Cette culture ne présente rien de bien caractéristique et s'est montrée très variable dans ses aspects.

Le plus souvent la pomme de terre se couvre rapidement d'un enduit blanchâtre, peu épais, qui ne se plisse pas par la dessiccation.

D'autres formes du Bacille mycoïde ont présenté une coloration tantôt jaunâtre, tantôt rosée. Cette dernière variété est peut-être identique au *Bacillus mycoïdes roseus* de Holschewnikoff (1).

Culture en bouillon. — Le développement en bouillon est en tous points identique à celui de la bactéridie charbonneuse.

---

(1) Holschewnikoff, *Fortschritte der Medicin*, Bd VII, S. 46.

Déjà huit à dix heures après l'ensemencement à 30°, on voit se produire de légers flocons; ces flocons augmentent en nombre et en dimensions, ils nagent dans un liquide resté limpide; agitée, la culture ne devient pas laiteuse.

Après quelques jours, les flocons se désagrègent et il se forme au fond du vase de culture un dépôt pulvérulent. Si l'on agite, ce sédiment se répand dans toute la masse du liquide, qui devient trouble et laiteux. L'examen microscopique montre que les flocons sont constitués par la Bactérie en longs filaments. Plus tard, ces filaments se résolvent en spores qui tombent au fond des récipients de culture constituant le dépôt que l'on y observe.

Dans les solutions de blanc d'œuf, de même que dans le sérum dilué, le développement est identique à ce qui vient d'être décrit.

Tels sont les caractères de culture du Bacille mycoïde tels qu'ils se sont présentés le plus généralement.

Cependant, des différentes formes de ce microbe que j'ai isolées, il s'en est trouvé chez lesquelles ces caractères étaient quelque peu modifiés.

Sans parler des cultures sur pomme de terre, sur les modifications desquelles j'ai déjà insisté plus haut, le développement sur plaques de gélatine peut varier par le mode d'extension et la liquéfaction plus ou moins rapide de la gélatine. Certaines cultures en piqûre ne présentaient que des filaments rudimentaires; enfin la rapidité de dissolution du sérum s'est montrée également très variable.

En somme, on voit que le *Bacillus mycoïdes* jouit d'une certaine variabilité dans ses caractères morphologiques.

Dispersion. — Le Bacille mycoïde est extrêmement répandu dans la nature; sa présence est constante dans les couches supérieures du sol cultivé.

Indépendamment des terres de toutes natures que j'ai étudiées, j'ai isolé cette Bactérie fréquemment du fumier, du terreau, de composts et de l'humus des forêts.

On la rencontre également dans l'air et dans les eaux naturelles.

10. Action du Bacille mycoïde sur l'albumine. — La propriété physiologique essentielle du Bacille mycoïde est de transformer, par voie d'oxydation, les substances azotées en ammoniaque.

Si cette fonction est constante chez ce microbe, elle n'en est pas moins susceptible de varier dans des limites assez étendues, et les diverses cultures que j'ai eues à ma disposition ont montré des aptitudes notablement différentes.

Pour le démontrer, j'ai ensemencé dans une solution albumineuse faible (1gr365 d'azote organique par litre) ces différentes variétés, dont voici la provenance :

1. Terre de jardin (Institut botanique).
2. Fumier décomposé (Woluwe-Saint-Lambert).
3. Terreau gras (Crainhem).
4. Terre de champ fumée (Roodebeke).
5. Humus de forêt (forêt de Soignes).
6. Terre sableuse (Watermael).
7. Compost de feuilles (Wesembeek).
8. Culture provenant de l'Institut Pasteur.

Après vingt jours de culture à 30°, les quantités suivantes d'ammoniaque étaient observées :

VARIÉTÉS.	AMMONIAQUE dans 50 c. c.	AMMONIAQUE par litre.
	MILLIGRAMMES.	GRAMMES.
1	24,0	0,480
2	14,2	0,284
3	21,6	0,432
4	39,6	0,792
5	34,8	0,696
6	19,8	0,396
7	20,4	0,408
8	17,5	0,350

On voit donc que, d'une forme à l'autre, les quantités d'ammoniaque produites ont, abstraction faite de l'individualité des cultures, varié presque du simple au double.

C'est la variété 4, la plus énergique, qui a été prise comme point de départ des expériences dans lesquelles j'ai cherché à déterminer l'équation du phénomène et l'action qu'exercent les agents extérieurs sur son intensité.

11. *Mécanisme du phénomène.* — Pour établir l'équation du phénomène, je me suis basé sur les considérations suivantes :

A. Lorsqu'on ensemence du Bacille mycoïde dans une solution albumineuse neutralisée, on constate qu'après quelque temps la réaction devient fortement alcaline : cette alcalinité est due à la présence de carbonate d'ammoniaque dans le liquide de culture.

La simple ébullition de ce dernier fait dégager la plus grande partie de l'alcali volatil ; après ce traitement, il donne encore un précipité avec le réactif de Nessler, dû à de petites quantités d'ammoniaque unie à des acides gras. L'addition d'une très petite quantité de magnésie calcinée provoque, à l'ébullition, le départ de la totalité de l'ammoniaque.

En même temps que de l'ammoniaque s'est formée, une grande quantité d'albumine a disparu. L'azote de l'albumine disparue correspond sensiblement à celui de l'alcali formé.

B. Si l'on analyse l'atmosphère mise en rapport avec la culture, on constate à la fin de l'expérience :

1° Une absorption considérable d'oxygène ;

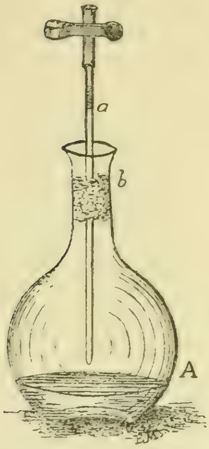
2° L'émission concomitante d'acide carbonique.

Le volume d'acide carbonique émis est notablement inférieur à celui de l'oxygène absorbé, une portion notable du premier restant fixée dans la liqueur sous forme de carbonate d'ammoniaque.

3° L'absence complète d'hydrogène et d'azote dans les produits gazeux de la fermentation.

Dans ces recherches, en atmosphère confinée, j'ai fait usage, entre autres dispositifs, de l'appareil suivant, analogue à celui que Roth [1] a préconisé depuis pour la culture des anaérobies.

C'est un ballon A contenant la solution albumineuse, fermé par un tampon d'ouate traversé par un tube de verre *a*, portant à sa partie supérieure un bout de caoutchouc et une pince.



Le tout est stérilisé à l'autoclave à 115°.

Après refroidissement, on ensemence de la façon ordinaire, en soulevant le tampon d'ouate que l'on replace rapidement en ayant soin de l'enfoncer jusqu'en *b*, de manière à laisser au-dessus un espace libre.

Par le tube *a*, on fait venir un courant d'oxygène pur dans le cas présent, d'hydrogène ou de gaz d'éclairage quand il s'agit de cultures anaérobies.

On laisse passer le gaz pendant longtemps afin de purger complètement l'appareil de l'air qu'il renfermait; lorsque ce résultat est atteint, on ferme la pince et on coule, dans l'espace laissé libre au-dessus du tampon d'ouate, de la paraffine fondue qui, en se figeant, produit une fermeture hermétique.

L'atmosphère du ballon est ainsi constituée d'oxygène pur; après culture, on fait passer les gaz dans l'eudiomètre pour rechercher les modifications qu'ils ont subies.

C. Lorsqu'on dose simultanément l'acide carbonique et l'ammoniaque produits par la respiration du microbe, on constate que ces corps se dégagent dans une proportion qui se rapproche beaucoup de celle qui correspond à la combustion complète de l'albumine.

Pour effectuer ces dosages, j'ai eu recours au dispositif suivant :

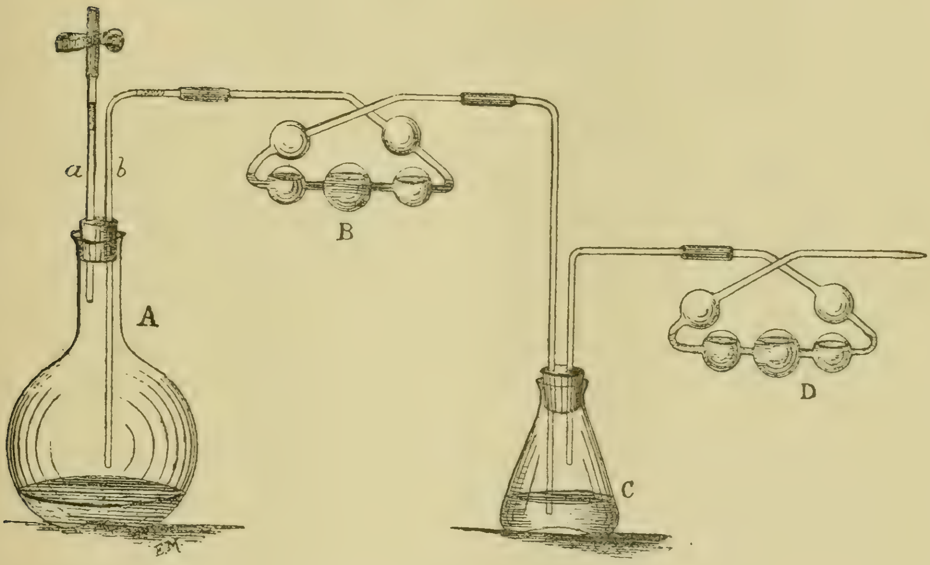
Un ballon d'un demi-litre A, contenant 50 centimètres cubes d'une solution albumineuse faible, est fermé à l'aide d'un bouchon

---

(1) Roth, *Ueber ein einfaches Verfahren der Anaërobenzüchtung.* (Centralbl. f. Bakteriologie, Bd XIII, 1893, n° 7.)

en caoutchouc percé de deux trous livrant passage à des tubes de verre fermés par un tampon de coton ; l'un d'eux est muni d'une pince à sa partie supérieure.

Après stérilisation et ensemencement, le tube *b* est réuni à un tube à boules B contenant 10 centimètres cubes d'acide sulfurique titré, et celui-ci au flacon C renfermant de l'eau de baryte. Le tube à boules D à potasse protège l'appareil contre l'acide carbonique extérieur.



Le microbe se développe, produit de l'ammoniaque et de l'acide carbonique ; ce dernier sature tout d'abord l'alcali formé et l'excédent est absorbé par la baryte.

De temps en temps, on renouvelle l'atmosphère de la culture ; dans ce but, D est réuni à une trombe. Pour débarrasser d'acide carbonique l'air aspiré en *a*, on le fait passer dans un tube d'absorption à potasse.

Après quinze jours de culture à 30°, on provoque dans l'appareil une circulation lente et prolongée d'air pour chasser en C l'acide carbonique produit. Par le tube *a*, on introduit quelques gouttes d'acide sulfurique, afin de décomposer le carbonate d'ammoniaque formé, et on plonge le ballon A dans un bain d'eau à 40° pour faciliter le dégagement de l'acide carbonique.

Après avoir fait passer de l'air pendant un temps suffisant, on dose l'ammoniaque dans le ballon A et dans le tube à boules B, qui a pu retenir des vapeurs ammoniacales, et l'acide carbonique dans le flacon C.

J'ai obtenu les chiffres suivants :

	Milligrammes.
Ammoniaque	8,0
Acide carbonique	71,6

Rapport entre ces deux corps : 1 : 8,9.

Or, le rapport théorique entre l'ammoniaque et l'acide carbonique produits par la combustion complète de l'albumine est, en poids, de 1 : 10,35 (en prenant comme point de départ la formule de Zinoffski).

Le déficit en acide carbonique est dû, sans doute, à la fixation d'une partie du carbone dans le liquide de culture à l'état d'acide gras.

D. En dehors de l'acide carbonique et de l'ammoniaque, l'analyse décèle la présence, en petites quantités, dans les liquides fermentés, des corps suivants : peptones, leucine, tyrosine, acides gras (acides formique, butyrique et propionique).

Les peptones ont été caractérisées dans le liquide débarrassé des albuminoïdes par la réaction du biuret; la leucine et la tyrosine, dans l'extrait glycérique, par leurs formes cristallines.

Pour la recherche des acides gras, j'ai distillé 500 centimètres cubes de culture additionnés d'acide sulfurique. Dans le distillat, l'acide formique a été mis en évidence par un sel d'argent; les acides butyrique et propionique, par le procédé de Duclaux (1).

---

(1) Duclaux, *Annales de chimie et de physique*, série V, t. III, 1874.

E. Le soufre de l'albumine se retrouve à l'état d'acide sulfurique.

De ces différents faits, on peut déduire la conclusion suivante :

Sous l'influence du Bacille mycoïde, l'oxygène se porte sur les éléments de l'albumine, le carbone est transformé en acide carbonique, le soufre en acide sulfurique, une partie de l'hydrogène en eau, et l'ammoniaque se dégage en quelque sorte comme résidu.

La production d'ammoniaque apparaît ici comme le corollaire d'un phénomène respiratoire.

Envisagé de la sorte, le dégagement d'ammoniaque, aux dépens de l'albumine, peut être rapproché de la production de soufre aux dépens d'hydrogène sulfuré, telle que Winogradsky l'a indiquée pour les sulfobactéries (1).

Dans les deux cas, une partie de la molécule est oxydée, fournissant au microbe une certaine quantité d'énergie, et l'ammoniaque, comme le soufre, constitue le résidu de la réaction.

L'analogie ressort nettement de la comparaison des deux équations.

Sulfobactéries :

$$H^{2}S + O = H^{2}O + S.$$

Microbes ammonisants :

$$C^{72}H^{112}Az^{18}SO^{22} + 77O^{2} = 29H^{2}O + 72CO^{2} + SO^{3} + 18AzH^{3}$$

(carbonate et sulfate ammonique).

Cette combustion complète de l'albumine par le microbe est influencée par divers facteurs : température, aération, réaction et concentration du milieu.

12. *Influence de la température.* — La température active, d'une façon remarquable, les phénomènes d'oxydation qui s'accomplissent dans le sol.

---

(1) WINOGRADSKY, *Recherches sur les sulfobactéries.* (ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR, t. III, 1889.)

Schlœsing et Muntz ont montré que c'est vers 35° que la nitrification atteint son maximum d'intensité.

J'ai cherché à déterminer quelle est, pour l'ammonisation, la température optima.

Dans ce but, j'ai ensemencé du Bacille mycoïde dans des ballons renfermant 25 centimètres cubes d'une solution diluée de blanc d'œuf dosant $1^{gr}365$ d'azote organique par litre.

Les 30 ballons ensemencés ont été partagés en séries de 5, qui furent placés simultanément aux températures suivantes : 0° à 5°, 10°, 20°, 30°, 37°, 42°. Après trente jours de culture, j'ai obtenu les quantités suivantes d'ammoniaque :

TEMPÉRATURE.	BALLONS 1.	BALLONS 2.	BALLONS 3.	BALLONS 4.	BALLONS 5.	MOYENNES.
0° à 5°	Traces.	Traces.	Traces.	Traces.	Traces.	Traces.
	Milligr.	Milligr.	Milligr.	Milligr.	Milligr.	Milligr.
10	1,5	3,0	2.6	1,8	— (1)	2,2
20	8,1	9,8	10,1	11,5	8,3	9,6
30	16,8	18,0	14,1	15,1	15,3	15,8
37	9,3	13,2	12,1	10,2	— (1)	11,2
42	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Les résultats moyens indiqués dans la dernière colonne de ce tableau montrent que de 0° à 5° il n'y a eu que des traces d'ammoniaque dans les liquides de culture; le réactif de Nessler n'y déterminait qu'une coloration jaune peu intense; le microbe s'est cependant développé abondamment à cette température; toutefois, le stade floconneux a persisté jusqu'à la fin, les filaments ne se résolvant pas en spores.

---

(1) Ces dosages n'ont pu être effectués à cause d'accidents survenus aux cultures.

A 10°, la production d'ammoniaque est encore faible; elle ne devient notable qu'à 20°, pour atteindre son maximum vers 30°.

A 37°, le phénomène a perdu de son intensité, le développement du microbe est moins luxuriant, il cesse complètement à 42°.

Le Bacille mycoïde ne compte donc pas parmi les nombreuses espèces thermophiles que M. Globig (¹) paraît avoir isolées du sol.

Il n'en est pas de même pour un bacille désigné plus haut sous la dénomination de *Bac. spec.* 3, très intéressant, qui, même à 60°, se développe d'une façon luxuriante et sporule abondamment. Je reviendrai prochainement sur ce curieux organisme.

13. *Influence de l'aération.* — En l'absence de nitrate (²), le Bacille mycoïde est essentiellement aérobie; il est incapable de se développer dans le vide de même que dans une atmosphère d'hydrogène ou d'acide carbonique.

L'oxydation de l'albumine étant intimement liée à la respiration du microbe, elle s'accomplit mieux lorsque l'oxygène se trouve en grande quantité dans le milieu ambiant.

C'est ce qu'une expérience très simple montre de la façon la plus évidente.

On ensemence du Bacille dans les divers récipients suivants, qui reçoivent chacun 35 centimètres cubes de solution albumineuse :

1. Ballon dans lequel on fait ultérieurement le vide.
2. Tube long et étroit, où la profondeur du liquide est de 12 centimètres.
3. Ballon ordinaire — — 5 —
4. Ballon très large — — 2.5 —

Les quatre cultures sont abandonnées pendant quinze jours

(¹) Globig, *Ueber Bacterien-Wachsthum bis 50°-70°*. (Zeitschrift f. Hygiene, t. III.)

(²) On verra plus loin que cette restriction est nécessaire.

à 30°. Après ce temps, on y dose l'ammoniaque. Voici les résultats obtenus :

CULTURE.	AMMONIAQUE dans 25 c. c.	AMMONIAQUE par litre.
	Milligrammes.	Grammes.
1	0,0	0,000
2	4,2	0,168
3	8,5	0,340
4	12,5	0,500

Dans le vide, il n'y a eu aucun développement et aucune production d'ammoniaque, et l'on voit qu'en présence d'air, les quantités d'alcali formées sont d'autant plus fortes que l'épaisseur de la couche liquide est moins grande, autrement dit que la surface exposée au contact de l'air est plus considérable.

Mais quelle que soit l'étendue de ces surfaces, les conditions d'aération réalisées dans ces expériences sont de bien loin inférieures à celles que présente le sol.

La terre est, en effet, constituée de fines particules enveloppées d'une mince couche d'eau, plongeant dans l'atmosphère du sol et dans laquelle végètent les microbes. Ces derniers se trouvent donc en contact intime avec les gaz du sol, atmosphère qui, tout au moins dans les couches superficielles, est presque aussi riche que l'air en oxygène (1).

Les résultats obtenus dans les cultures artificielles ne doivent donc être considérés que comme des minima.

14. *Influence de la réaction du milieu.* — La réaction du milieu est, plus qu'on ne le pense généralement, un facteur important dans la chimie du sol ; elle influe d'une façon remarquable sur les procès qui s'y accomplissent.

---

(1) Th. Schloesing fils, *Sur l'atmosphère contenue dans le sol.* (Comptes rendus, t. CIX, p. 673.)

En sol acide, la décomposition des matières organiques est très lente; si, par l'application de chaux, de marne, d'un phosphate très basique, on vient modifier cette réaction, la minéralisation des substances organiques s'accomplit rapidement, ce qui se traduit naturellement par une vigueur toute particulière de la végétation.

C'est que les agents par excellence de l'oxydation des matières organiques — les bactéries — se développent de préférence dans un milieu alcalin.

Winogradsky a montré que le ferment nitreux ne peut se développer que s'il existe dans le milieu une base, un carbonate de magnèsie, de chaux, etc.

Si donc la réaction est acide, la nitrosation est entravée.

Il était intéressant de rechercher la sensibilité du ferment ammonisant aux variations de réaction du milieu.

J'ai ensemencé du Bacille mycoïde dans du bouillon neutralisé [1], additionné de quantités croissantes d'acide sulfurique.

Voici les résultats obtenus :

CULTURE.	ACIDE SULFURIQUE par litre.	ÉTAT DE LA CULTURE.
	Grammes.	
1	0,1	Développement.
2	0,2	Id.
3	0,5	Id.
4	1,0	Pas de développement.
5	2,0	Id.
6	3,0	Id.
7	4,0	Id.
8	5,0	Id.

---

[1] L'emploi de la solution albumineuse m'était interdit dans cette expérience, l'acide employé précipitant l'albumine.

Comme on le voit, des quantités de $0^{gr}1$ à $0^{gr}5$ d'acide par litre n'ont pas entravé le développement du microbe; dans ces trois cultures, la réaction est devenue, après quelque temps, fortement alcaline.

Après quinze jours de séjour à la chambre thermostatique à 30°, l'alcalinité de la culture 3 correspondait à $0^{gr}525$ de potasse caustique par litre.

On suit facilement les variations de réaction dans ces expériences en ajoutant à la culture quelques gouttes de teinture de tournesol, dont on voit se modifier la coloration.

Le ferment ammonisant supporte donc un certain degré d'acidité.

Ce fait explique sa présence dans l'humus des bois, dans certains terrains où je l'ai rencontré.

Indépendamment de l'action des moisissures, l'ammonisation peut donc s'accomplir dans des sols acidés, où la production des nitrates est impossible.

CULTURE.	POTASSE CAUSTIQUE par litre.	ÉTAT DE LA CULTURE.
	Grammes.	
1	0,1	Développement.
2	0,2	Id.
3	0,5	Id.
4	1,0	Id.
5	2,0	Id.
6	3,0	Pas de développement.
7	4,0	Id.
8	5,0	Id.
9	6,0	Id.
10	10,0	Id.

Des nombreuses analyses de terres diverses effectuées par Petermann (¹), il résulte que les composés ammoniacaux se rencontrent normalement dans les sols de prairies, de sapinières, de landes et de bruyères, qui tous présentent généralement une certaine acidité.

Si le Bacille mycoïde résiste à une faible acidité, le milieu alcalin n'en est pas moins celui qui favorise le plus son développement ; il résiste à l'addition aux solutions nutritives de quantités relativement considérables de potasse caustique.

L'alcalinité des cultures est encore, par suite de la production d'ammoniaque, peu à peu augmentée.

15. *Influence de la concentration des solutions.* — Perdrix (²) a fait voir que plus un bouillon est riche en matière azotée, plus est faible la proportion de cette matière transformée en ammoniaque par la bactéridie charbonneuse.

J'ai recherché s'il en était de même avec le Bacille mycoïde.

J'ai donc cultivé le microbe dans des solutions de moins en moins riches en azote albuminoïde.

Les résultats obtenus ont été les suivants :

SOLUTION.	AZOTE ALBUMINOÏDE au début dans 25 cm³.	AZOTE AMMONIACAL à la fin dans 25 cm³.	POUR-CENT d'azote organique transformé.
	Milligrammes.	Milligrammes.	
1	80,0 (3)	34,3	42,9
2	64,0	29,5	46,1
3	48,0	22,7	47,3
4	32,0	18,0	56,2
5	16,0	13,8	86,2
6	6,4	6,3	98,4
7	3,2	3,3	100,0
8	1,6	1,4	100,0

(¹) Petermann, *Recherches de chimie et de physiologie appliquées à l'agriculture.* Bruxelles, 1886, p. 560.

(²) Perdrix, *loc. cit.*

(3) Solution à 20 °/₀ environ de blanc d'œuf dans laquelle l'azote a été dosé par le procédé Kjeldahl ; elle a été rendue incoagulable par l'addition de 15 c. c. de solution au ¹/₁₀₀₀ de sulfate de fer par litre.

Les autres solutions en dérivent par dilution.

Dans les solutions très diluées, l'azote organique a été complètement transformé en ammoniaque; c'est ce qui a eu lieu dans les trois dernières solutions (la différence de $0^{mmg}2$ entre l'azote albuminoïde et l'azote ammoniacal de la dernière solution rentrant dans les limites d'erreur des dosages).

Ensuite, à mesure que la concentration augmente, la proportion d'ammoniaqne diminue. En même temps on constate que les produits résiduels de l'activité du microbe, les acides odorants, apparaissent en quantités beaucoup plus considérables.

Les cultures en solutions étendues ne dégagent aucune odeur; les liquides concentrés, au contraire, présentent une odeur très intense à la fois butyrique et ammoniacale.

Action du bacille mycoïde sur les différentes substances azotées.

16. *Substances albuminoïdes.* — Je n'ai parlé jusqu'ici que de l'action du Bacille mycoïde sur l'albumine de l'œuf, mais j'ai tenu à m'assurer aussi que son action est identique sur les autres substances albuminoïdes et sur les peptones.

J'ai opéré de la façon suivante :

Dans des ballons contenant 25 centimètres cubes de la solution minérale que voici :

Eau	1000 c. c.
Phosphate bipotassique.	1,0 gr.
Chlorure de sodium	0,5 —
Sulfate de magnésium	0,5 —

j'ai ajouté respectivement les substances suivantes : caséine, fibrine, gélatine, gluten, légumine, myosine, peptone.

Deux ballons sont ainsi pourvus des mêmes composés albuminoïdes; après stérilisation, l'un d'eux est ensemencé de Bacille mycoïde, l'autre est laissé stérile et servira de témoin.

Après vingt jours de culture à 30°, j'ai obtenu les résultats consignés dans le tableau qui suit.

SUBSTANCES.	DOSES dans 25 cm3 de liquide minéral.	AMMONIAQUE dans le ballon témoin (1).	AMMONIAQUE dans les cultures.
	Grammes.		Milligrammes.
Caséine	0,2	Traces.	10
		Milligrammes.	
Fibrine	0,2	0,0	11,6
Gélatine	0,25	0,0	18,5
Gluten	0,2	0,0	4,5
Légumine . . .	0,2	Traces.	12,4
Myosine	0,1	2,3	8,3
Peptone	0,25	Traces.	22,0

Ces diverses substances, et particulièrement les peptones, ont donc été énergiquement transformées en ammoniaque.

Il en est de même de la sérine du sang.

Du sérum, dilué au quart, contenait, après quinze jours de culture à 30°, $16^{\text{mgr}}3$ d'ammoniaque dans 25 centimètres cubes.

On vient de voir que la caséine est comburée par le microbe; sa destruction est bien plus complète encore lorsqu'on prend comme milieu de culture du lait normal stérilisé. Dans ces conditions, le Bacille se développe avec beaucoup d'énergie, le lait change bientôt d'aspect, la crème se sépare et vient occuper la surface du liquide, tandis que le sérum sous-jacent se colore peu à peu en jaune, puis en jaune brun qui se fonce de plus en plus. Après un mois de culture, j'ai observé, dans des laits différents, les quantités suivantes d'ammoniaque :

---

(1) Provenant d'impuretés.

Lait 1 . . . . . 45,8 milligrammes dans 25 centimètres cubes.
Lait 2 . . . . . 39,3 — —

ce qui fait respectivement $1^{gr}832$ et $1^{gr}572$ d'ammoniaque produite par litre.

Malgré ces grandes quantités d'ammoniaque, le lait ne présentait pas, après culture, une forte réaction alcaline.

Ce fait est dû à la production, aux dépens de la lactose, d'acides qui ont neutralisé l'ammoniaque au fur et à mesure de sa production.

17. *Substances azotées non albuminoïdes.* — J'ai dit que la leucine et la tyrosine sont des produits résiduels de l'activité du microbe ; ces substances peuvent-elles, à leur tour, être transformées en ammoniaque ? En est-il de même de la créatine, de l'asparagine, de l'urée ?

Pour répondre à ces questions, il a été fait des cultures du Bacille mycoïde dans la liqueur minérale de tantôt, additionnée de 5 grammes par litre de saccharose et des corps azotés à étudier.

Voici les résultats obtenus après dix-huit jours de culture à 30° :

SUBSTANCES.	QUANTITÉS dans 25 cm^3 de liquide minéral.	AMMONIAQUE dans les témoins (1).	AMMONIAQUE dans les cultures.
	Grammes.	Milligrammes.	Milligrammes.
Leucine	0,1	1,5	5,8
Tyrosine	0,1	1,0	6,7
Créatine	0,1	Traces.	3,4
Asparagine . . .	0,25	Traces.	22,0

---

(1) Provenant d'impuretés.

L'asparagine, la leucine, la tyrosine, et à un moindre degré la créatine, ont donc été transformées en ammoniaque.

Il n'en est pas de même de l'urée. Ce corps se dédoublant facilement en carbonate d'ammoniaque, j'ai préparé les solutions par le procédé indiqué par Leube [1] et qui consiste à stériliser à part l'urée solide et bien desséchée, qui supporte alors sans danger une température de 100°.

L'urée était disposée dans de petites ampoules de verre que l'on mettait quelques heures à l'étuve à air chaud et qu'on laissait tomber ensuite dans les ballons renfermant la solution minérale sucrée stérilisée.

Comme des contaminations auraient pu se produire pendant ces manipulations, les récipients de culture étaient mis deux jours à la chambre thermostatique et l'on n'ensemençait que ceux où ne se manifestait aucun trouble bactérien.

Dans ces solutions, le Bacille mycoïde n'a présenté aucun développement. L'urée ne constitue donc pas un aliment azoté pour ce microbe.

Le nitrate d'urée et les sels ammoniacaux sont dans le même cas. A plusieurs reprises, j'ai essayé de cultiver le bacille dans une solution minérale sucrée, additionnée de 2 grammes par litre de sulfate d'ammoniaque; jamais je n'ai observé le moindre trouble dans la liqueur.

18. *Nitrates.* — La culture avec nitrates comme source d'azote est des plus intéressantes et montre combien les aptitudes physiologiques du microbe varient avec le milieu.

Si l'on ensemence du Bacille mycoïde dans la solution minérale sucrée de tout à l'heure, additionnée de 2 grammes par litre de nitrate de soude, on constate que, durant les premiers jours, le développement est extrêmement lent. Après deux ou trois jours cependant apparaissent dans le liquide des flocons denses et nombreux.

---

[1] Leube, *Ueber der ammoniakalische Hamgährung.* (Virchow's Archiv, t. C, p. 540.)

Si l'on traite une portion du liquide de culture par le réactif de Griess ([1]) et une autre partie par le réactif de Nessler, on constate la présence simultanée de nitrites et d'ammoniaque ; ce dernier se trouve en grande quantité.

Ce processus de réduction, déjà signalé chez ce microbe par de Blasi et Russo Travali ([2]), présente une énergie telle, qu'après dix à quinze jours tout l'azote nitrique est transformé en ammoniaque, et le liquide de culture ne donne plus de réaction avec la diphénylamine sulfurique.

Il est curieux de voir le même microbe agir tantôt en oxydant, vis-à-vis de l'albumine, tantôt en réducteur, en présence de nitrates.

Les phénomènes d'oxydation et ceux de réduction ne sont donc pas nécessairement l'apanage d'organismes distincts : tous deux sont intimement liés à la respiration des microbes, respiration normale dans le cas de l'oxydation, respiration intramoléculaire lorsqu'il s'agit de réduction.

Le Bacille mycoïde, se développant en aérobie dans les solutions de blanc d'œuf, brûle l'albumine à l'aide de l'oxygène de l'air, tandis que dans les solutions de nitrates additionnées de sucre, il brûle ce dernier en enlevant l'oxygène nécessaire à cette combustion aux nitrates, corps oxygénés et très facilement réductibles.

Les recherches de Laurent ([3]) ont montré, en effet, que les nitrates sont aisément réduits, non seulement sous l'influence d'agents organisés (bactéries, levures, moisissures), mais encore de facteurs purement physiques (lumière solaire).

S'il en est ainsi, si le bacille peut emprunter l'oxygène nécessaire à sa respiration aux nitrates, il doit pouvoir, en présence de ces sels, *vivre en l'absence d'oxygène libre, vivre en anaérobie.*

C'est ce que l'expérience a prouvé.

---

(1) Acide sulfanilique, acide chlorhydrique, chlorure de naphtylamine.

(2) De Blasi et Russo Travali, *Gazetta chimica italiana,* 1889, p. 440.

(3) Laurent, *Notes sur la réduction des nitrates par les plantes et par la lumière solaire.* (Bulletin de l'Académie royale de Belgique, 1890 et 1891.)

Le Bacille mycoïde ensemencé dans une solution sucrée additionnée de nitrates, en atmosphère d'hydrogène ou d'acide carbonique, s'est développé aussi bien que dans un ballon témoin où l'air avait accès. Ici encore il y a eu réduction des nitrates en nitrites et en ammoniaque, et combustion du sucre en acide carbonique et en eau. Les deux phases de fermentation anaérobie peuvent être représentées par les équations suivantes, dans lesquelles (CH^2O) représente l'hydrate de carbone en présence.

$$1.\ 2AzO^3H + (CH^2O) = 2AzN^2H + H^2O + CO^1.$$
$$2.\ 2AzO^2H + 3(CH^2O) = 2AzH^3 + 3CO^2 + H^2O.$$

Comme le sucre, l'albumine peut, en l'absence d'oxygène mais en présence de nitrates, être oxydée par le microbe, tandis que lorsqu'il n'existe pas dans le milieu de substance facilement réductible, la production d'ammoniaque aux dépens de l'albumine nécessite le concours de l'oxygène libre.

Un fait analogue a été signalé récemment par Giltay et Aberson (¹). Ils ont isolé du sol un organisme qui, en l'absence d'oxygène dans les solutions de nitrates additionnées d'asparagine, transforme ce corps en ammoniaque en empruntant l'oxygène nécessaire aux nitrates qu'il réduit.

19. *Action du Bacille mycoïde sur les hydrates de carbone.* — L'étude de la nutrition carbonée du Bacille mycoïde présente certaines difficultés spéciales provenant de ce fait, que ce microbe se développe très mal dans les solutions dépourvues de matières organiques azotées.

J'ai donc dû me borner à ajouter à des solutions de blanc d'œuf différents hydrates de carbone.

Dans ces conditions, la culture prend un aspect tout particulier; dès le second jour, la liqueur se trouble : la réaction est devenue acide et l'albumine s'est précipitée.

(¹) GILTAY et ABERSON, *Recherches sur un mode de dénitrification et sur le schizomycète qui la produit.* (ARCHIVES NÉERLANDAISES, t. XXV, p. 341.)

Cette production d'acide s'observe avec la glycose, la saccharose, la lactose, la dextrine et l'amidon ; elle est très faible avec l'inuline et nulle avec les gommes.

Cette réaction acide n'est cependant pas définitive; sous l'influence d'une zymase sécrétée par le microbe (¹), les flocons d'albumine précipitée se dissolvent peu à peu, et, par la production d'ammoniaque, la réaction devient neutre et puis enfin franchement alcaline. Ceci montre combien est peu fondée la distinction qu'ont établie certains auteurs entre les *bactéries acidifiantes* et les *bactéries alcalinisantes*. Ces variations de réaction dépendent essentiellement de la nature du milieu.

CONCLUSIONS.

1. L'oxydation graduelle dans le sol de l'azote des matières organiques en nitrates ou *nitrification* s'accomplit en trois phases principales :

A. L'*ammonisation* ou transformation de l'azote organique en ammoniaque ;

B. La *nitrosation* ou transformation de l'ammoniaque en nitrites;

C. La *nitratation* ou transformation des nitrites en nitrates.

2. L'ammonisation s'accomplit essentiellement sous l'influence des microbes divers (bactéries, levures, moisissures) qui pullulent dans les couches supérieures du sol.

Dans la terre arable, l'action des bactéries est prédominante; dans les terres humeuses, acides, les moisissures interviennent pour une part importante dans le phénomène.

3. Parmi les bactéries du sol arable, le *Bacillus mycoïdes* ou bacille de la terre (*Erde Bacillus* des auteurs allemands) est à la fois un des plus répandus et celui dont l'action sur les matières azotées est la plus énergique.

4. Sous l'influence de ce microbe, l'oxygène se porte sur les élé-

---

(¹) Cette zymase est très probablement du groupe des trypsines; elle peut, en effet, agir en milieu alcalin et donne naissance, à côté de peptones, à de la leucine, tyrosine, etc.

ments de l'albumine : le carbone est transformé en acide carbonique, le soufre en acide sulfurique, l'hydrogène partiellement en eau, laissant l'ammoniaque comme résidu de cette oxydation.

Il y a également production, en petites quantités, de peptones, leucine, tyrosine et d'acides gras odorants.

5. Les conditions optima pour l'activité du microbe ammonisant sont les suivantes :

A. Une température élevée, voisine de 30°;

B. Une aération complète ;

C. Une légère alcalinité de milieu ;

D. Une faible concentration des solutions albumineuses.

6. Le Bacille mycoïde s'est montré apte à transformer en ammoniaque non seulement l'albumine de l'œuf, mais encore la caséine, la fibrine, la légumine, le gluten, la myosine, la sérine et les peptones.

La créatine, la leucine, la tyrosine et l'asparagine subissent les mêmes modifications; au contraire, l'urée, le nitrate d'urée ainsi que les sels ammoniacaux ne sont pas attaqués par le microbe, pour lequel ils ne constituent pas un aliment.

7. Le Bacille mycoïde, *ammonisant* et *aérobie* en présence de matières organiques azotées, devient *dénitrifiant* et *anaérobie* quand il existe dans le milieu des corps facilement réductibles (nitrates).

En l'absence de tout oxygène libre dans des solutions renfermant une matière organique (sucre, albumine), il réduit les nitrates en nitrites et en ammoniaque.

Il est donc capable de dégager de l'ammoniaque par deux processus tout à fait opposés : par oxydation dans un cas, par réduction dans l'autre.

Le présent travail a été exécuté à l'Institut botanique de Bruxelles; c'est pour moi un devoir bien agréable de remercier ici publiquement M. le professeur Errera, ainsi que ses assistants, MM. les docteurs Clautriau et Massart, pour les précieux conseils qu'ils m'ont prodigués dans le cours de mes recherches.

Institut botanique de Bruxelles, avril 1893.

COLORATION DES NOYAUX PAR LA NIGROSINE

PAR

L. ERRERA (¹)

M. Errera signale la *nigrosine* (²) comme un excellent réactif colorant pour les noyaux. Il présente des coupes végétales teintes au moyen de cette substance : les noyaux seuls y ont pris une coloration bleue, très foncée, qui les fait nettement ressortir et révèle leurs détails de structure. Tout le reste de la cellule demeure sensiblement incolore.

La nigrosine est un des innombrables dérivés du goudron ; elle se rattache à la classe des *indulines ;* sa constitution est d'ailleurs encore assez mal connue. Elle est soluble dans l'eau, insoluble dans l'alcool et l'éther. Voici comment M. Errera l'emploie : la préparation microscopique, colorée par un court séjour dans une solution de nigrosine, est lavée à l'eau distillée jusqu'à ce qu'elle ne cède plus aucune matière colorante au liquide. On peut alors, soit monter dans la glycérine (ou la gélatine glycérinée), soit passer à l'alcool, éclaircir au moyen de l'essence de girofle et monter dans le baume ou le dammar. La première méthode est préférable s'il importe d'étudier le protoplasme et la partie de la figure nucléaire formée par l'*achromatine* de Flemming ; la seconde devra être employée si l'on s'attache surtout à l'examen de la *chromatine* (= *nucléine*),

---

(¹) Extrait du procès-verbal de la séance du 25 juin 1881, de la *Société belge de microscopie,* t. VII, nº 8.

(²) De la fabrique de C. A. F. Kahlbaum, à Berlin.

ou s'il s'agit de rendre invisibles des grains d'amidon qui gêneraient l'observation.

En somme, on voit que l'emploi de la nigrosine se rattache directement à la méthode de coloration des noyaux imaginée par Hermann et récemment préconisée par Flemming (¹).

Cette substance mérite d'être mise sur la même ligne que la safranine, le vert de méthyle et les autres réactifs colorants le plus justement estimés.

(¹) Flemming, *Arch. f. mikr. Anat.*, Bd XIX, 1881.

SUR

L'EMPLOI DE LA CANARINE

PAR

L. ERRERA ([1])

M. Errera présente ensuite une série de coupes de tiges colorées par la *canarine*, matière colorante nouvelle dérivée du sulfocyanate de potassium. Ces préparations ont été faites au Laboratoire d'anatomie et de physiologie végétales de Bruxelles, par M. Clautriau, qui s'occupe actuellement de l'étude de la canarine au point de vue de la technique microscopique. La nouvelle substance exerce son action colorante en présence de la potasse caustique, ce qui la rendra sans doute précieuse pour diverses recherches d'anatomie végétale.

([1]) Extrait du procès-verbal de la séance du 26 juillet 1884, de la *Société belge de microscopie*, t. X, n° 11.

NOTES DE TECHNIQUE MICROSCOPIQUE

DU

LABORATOIRE D'ANATOMIE ET DE PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES DE L'UNIVERSITÉ DE BRUXELLES

I

SUR
L'EMPLOI DE L'ENCRE DE CHINE
EN MICROSCOPIE

PAR

L. ERRERA (¹)

Un objet se voit d'autant mieux au microscope que son indice de réfraction et sa couleur diffèrent davantage de l'indice de réfraction et de la couleur du milieu ambiant. La plupart de nos procédés de préparation reposent sur ce principe élémentaire. Tantôt, en effet, pour rendre plus apparents des détails délicats de structure, nous plaçons les objets dans des milieux très réfringents, tantôt nous leur faisons absorber des matières colorantes appropriées, afin que leurs différentes parties se distinguent mieux les unes des autres par leurs nuances et se détachent plus nettement sur le champ du microscope. On sait que les méthodes de coloration se sont multipliées dans les dernières années d'une manière exubérante, à ce point qu'en visitant les laboratoires des micro-

---

(¹) Cette note a paru dans le *Bulletin de la Société belge de microscopie,* t. X, nº 11 (26 juillet 1884).

graphes, on pourrait souvent se croire dans des ateliers de teinturerie.

Pourtant certains objets se laissent difficilement pénétrer par les réactifs colorants; d'autres s'y refusent même tout à fait; d'autres encore permettent bien au réactif de les traverser, mais ne retiennent point la matière colorante. Dans des cas semblables, on peut recourir au procédé inverse de celui qu'on emploie d'habitude : colorer le milieu ambiant au lieu de colorer l'objet. C'est ainsi que Hofmeister (¹) a conseillé d'observer certaines substances gélatineuses dans de l'alcool coloré, et Seiler (²) propose de monter les grains d'amidon dans un liquide glycérique coloré par le bleu d'aniline.

La coloration de l'objet aussi bien que la coloration du milieu telle qu'on la pratique ordinairement ne s'appliquent pas aux organismes vivants. Ceux-ci se refusent, en effet, à absorber les solutions colorantes. Les exceptions que Brandt et Certes (³) ont indiquées à cette règle ne sont qu'apparentes. D'après Brandt, on peut teindre le noyau des Protozoaires vivants en violet pâle par une solution diluée d'hématoxyline, et les globules graisseux de ces êtres en brun au moyen de brun de Bismarck; Certes a retrouvé cette dernière action chez la cyanine ou bleu de quinoléine. Mais, dans toutes ces expériences, le protoplasme proprement dit demeure incolore et — ce qu'il importe surtout de faire ressortir ici — la solution colorée exerce toujours une action nuisible sur la vitalité des organismes : elle n'est tolérée qu'à un état de grande dilution et pendant peu de temps.

Si, au contraire, on s'adresse à l'autre méthode et qu'on se contente de placer les éléments vivants dans une solution colorée quelque peu intense, sans chercher à les colorer eux-mêmes, on

---

(¹) *Ber. d. sächs. Ges. zu Leipzig*, t. X, 1858, p. 21.

(²) Cité dans Behrens, *Hilfsbuch*, 1883, p. 185.

(³) K. Brandt, *Verhandl. d. physiol. Ges.*, Berlin, 1878, p. 35, et *Biolog. Centralblatt*, t. I, 1881, nº 7. — Certes, *Comptes rendus*, t. XCII, nº 8, et *Zool. Anz.*, 1881, nºs 81 et 84.

s'expose aussi à amener leur mort, soit par exosmose, soit même le plus souvent par un empoisonnement véritable.

Il peut donc être utile, dans bien des cas, de posséder un liquide fortement coloré qui ne soit pas toxique et n'exerce pas d'action osmotique sensible sur les êtres microscopiques que l'on y place. Pour satisfaire à ces conditions, il suffit de substituer aux solutions colorées, de l'eau tenant en suspension des poudres colorées insolubles. C'est à ce point de vue que je voudrais appeler l'attention sur l'emploi de l'encre de Chine. Son innocuité et sa coloration intense la rendent très propre à l'usage dont je parle. L'encre de Chine consiste, comme on sait, en noir de fumée et en matière gommeuse très légèrement aromatisée avec du musc ou du camphre. En la délayant dans l'eau, on obtient un liquide du plus beau noir, grâce aux fines particules de charbon qu'il tient en suspension; mais ce liquide n'amène point la plasmolyse des cellules et les organismes continuent à y vivre parfaitement.

Voici comment on procède. On délaie un peu d'encre de Chine de bonne qualité, mais pas trop parfumée, dans un de ces godets de porcelaine qui servent à l'aquarelle. Il importe de triturer soigneusement : le liquide doit présenter au microscope des granules égaux et excessivement petits, animés d'un vif mouvement brownien; il doit avoir, en couche très mince, une teinte d'un gris foncé, mais non pas d'un noir opaque. On place une goutte de ce liquide sur un porte-objet; on dépose sur un couvre-objet les organismes à étudier et on l'applique sur la goutte de liquide noir, avec la face où se trouvent les organismes tournée vers le bas. De cette manière, on évite qu'il y ait des particules noires entre le verre couvreur et les objets à étudier. Ceux-ci apparaissent remarquablement éclairés sur le fond gris noir, de sorte que leurs détails s'aperçoivent avec netteté. La matière charbonneuse ne semble nullement incommoder les organismes microscopiques : ils s'y portent très bien, et j'ai pu conserver ainsi des Spirogyres, des Vauchéries, des Infusoires, etc., etc., vivants, pendant plusieurs jours.

Pour des observations prolongées, il convient naturellement de se servir d'une chambre humide ou d'empêcher l'évaporation en plaçant la préparation dans une atmosphère saturée de vapeur d'eau. J'emploie d'ordinaire la chambre humide de Strasburger, qui se compose d'un morceau de carton humide, posé sur un porte-objet et percé en son centre d'une ouverture circulaire sur laquelle on applique un verre couvreur. Celui-ci porte à sa face inférieure les organismes dans une goutte du liquide noir.

On peut aussi faire dans l'encre de Chine des préparations durables. Pour cela, on remplace peu à peu, sous le couvre-objet, l'encre de Chine délayée dans l'eau par de l'encre de Chine délayée dans la glycérine. Il faut toujours faire en sorte que le liquide noir ne dépasse pas les bords du cover, sans quoi il s'y produirait des courants par suite de l'évaporation, et les particules noires ne seraient plus uniformément réparties.

C'est surtout pour mettre en évidence les gaines gélatineuses, si fréquentes chez les êtres inférieurs, et les couches gélifiées des membranes des plantes supérieures, que l'encre de Chine me paraît appelée à rendre des services. Les enveloppes gélatineuses de beaucoup d'algues filamenteuses, des *Glœocapsa*, des colonies de *Zooglœa*, etc., se distinguent à peine de l'eau, et il est, en général, difficile de les bien voir et d'en déterminer les contours; rien n'est, au contraire, si aisé, quand on observe dans l'eau chargée d'encre de Chine.

Cette méthode pourra probablement aussi s'appliquer avec quelque avantage à l'étude de la digestion des Infusoires, du mouvement des Diatomées et des organismes ciliés, etc.

II

DEUX QUESTIONS DE TERMINOLOGIE

PAR

L. ERRERA (¹)

1. Tous ceux qui ont eu à rédiger des travaux de micrographie ont dû remarquer combien les termes de *porte-objet* et de *couvre-objet* sont incommodes et combien ils manquent d'élégance. Quoi de plus désagréable — èt de plus fréquent — que les phrases dans le genre de celle-ci : « l'objet, déposé sur le porte-objet, est recouvert ensuite du couvre-objet ». Ces mots composés sont si contraires au génie de notre langue et ils alourdissent la phrase à ce point, que beaucoup d'auteurs préfèrent employer les équivalents allemands ou anglais. On parle couramment d'un *slide*, d'un *cover* ou d'un *deck-glas*. Ce remède ne me paraît cependant pas beaucoup meilleur que le mal.

La langue française serait-elle hors d'état de tirer de son propre fonds deux termes appropriés? Il est difficile de l'admettre, et, sans avoir recours à aucun néologisme, je pense que « lame » et « lamelle » conviendraient parfaitement. Ce sont des mots courts, commodes, euphoniques et très français. Il suffirait que les micrographes s'entendissent pour appeler toujours le porte-objet la *lame*, et le couvre-objet la *lamelle*, comme Ranvier l'a fait, par

---

(¹) Cette note a paru dans le *Bulletin de la Société belge de microscopie*, t. X, nº 12 (12 octobre 1884).

exemple, dans son *Traité technique d'histologie* (¹). En vain répondrait-on qu'il faut pour cela attacher à ces termes généraux une signification trop spéciale. N'est-ce pas ce que l'on a fait pour *oculaire*, *objectif*, *platine* et tant d'autres mots? Et de même que l'on a dit pendant quelque temps la lentille objective ou le verre objectif, avant de parler de l'objectif tout court, on pourrait préparer l'innovation proposée en se servant d'abord des expressions de *lame porte-objet* et de *lamelle couvre-objet*. Ce serait une transition toute naturelle, et c'est du reste ce que font déjà quelques auteurs.

2. L'emploi du millième de millimètre ($= \mu$) comme unité de mesure micrographique devient de plus en plus général, et il faut s'en féliciter. On appelle indifféremment cette unité un *micromillimètre* ou un *micron*. Je pense que de ces deux noms le dernier seul devrait être conservé et que *micromillimètre* pourrait être utilement rayé du dictionnaire. Voici pourquoi :

D'abord *micron* a sur *micromillimètre* des avantages de concision et d'élégance évidents. Mais ce n'est pas tout. On sait que dans le code de mesures élaboré par la British Association, qui a servi de base à toute la nomenclature moderne des unités électriques, le préfixe *micro* désigne toujours la *millionième partie*. Un microvolt, un microhm, une microdyne sont la millionième partie d'un volt, d'un ohm ou d'une dyne. Le « micromillimètre » ferait seul exception à cette règle générale, puisqu'il représente la millième et non la millionième partie du millimètre. Pour suivre la règle, le millième de millimètre, qui est le millionième du mètre, devrait être appelé un *micromètre*, comme l'ont proposé quelques auteurs (²).

(¹) Cf. *Loc. cit.*, p. 45.

(²) *Journ. roy. micr. Soc.*, 1880, p. 327. — C'est aussi ce que font Nencki et Guillaume, *Rev. Sc.*, 25 janvier 1890, p. 116 (*Beitr. z. Biol. d. Spaltpilze*, 1880, p. 13 du tiré et passim; et *Journ. f. prakt. Chem.*, XIX, XX. Nencki dit : Mikrometer pour $^1/_{1000}{}^{mm}$). — Rücker (*Nature*, 1888, XXXVII, p. 388) rejette micromillimètre pour les mêmes raisons que moi; il propose *micromètre*; mais Cheney, *ibid.*, p. 438, appuie *micron*.

Mais ce mot a déjà un emploi déterminé et il n'y a aucun motif pour le distraire de sa signification usuelle. Dans ces conditions, il est tout indiqué, semble-t-il, d'adopter le mot *micron* à l'exclusion de tout autre. On l'avait créé comme abréviation de micromillimètre, pourtant rien n'empêche d'y voir tout aussi bien l'abréviation de micromètre, qui serait le terme correct mais qui doit rester inusité dans ce sens. J'ajouterai — et ce n'est pas le moindre de mes arguments — que le terme de *micron* et l'abréviation μ ont été adoptés par le Comité international des poids et mesures (¹).

Si la Société de microscopie se rallie aux idées que je viens d'avoir l'honneur de lui exposer, il serait désirable qu'elle les sanctionnât par un vote afin de leur donner plus d'autorité.

Voici mon projet de résolution :

« La Société belge de microscopie émet le vœu :

1° De voir remplacer, dans le langage scientifique, les mots porte-objet et couvre-objet respectivement par *lame* et *lamelle*;

2° De voir désigner le millième de millimètre par *micron* (pluriel : *des microns*) à l'exclusion du mot micromillimètre, qui doit être rejeté » (²).

(¹) Procès-verbaux des séances de ce Comité en 1879, cité dans *l'Annuaire de l'Observatoire royal de Bruxelles,* 1881, p. 335.

(²) Cette proposition fut acceptée ultérieurement par la Société belge de microscopie.

III

COMMENT L'ALCOOL CHASSE-T-IL LES BULLES D'AIR?

PAR

L. ERRERA (¹)

Les micrographes savent avec quelle ténacité des bulles d'air très petites adhèrent souvent aux coupes de tissus et combien on a de peine à les en chasser. Si les moyens à employer sont généralement énumérés dans les traités, on paraît s'être moins occupé des principes de physique sur lesquels ces artifices de préparation reposent.

Il est vrai que pour la plupart des procédés, l'explication se présente presque d'elle-même. Tantôt on chauffe la coupe microscopique, tantôt on la place sous le récipient de la machine pneumatique, ou bien on la plonge pendant quelque temps dans de l'eau fraîchement bouillie et refroidie. Ici, c'est la solubilité de l'air dans l'eau qui intervient; là, il suffit de se rappeler que les bulles d'air, à l'intérieur du tissu, sont emprisonnées dans de minces lames d'eau, par l'effet des forces moléculaires. On comprend ainsi que la chaleur ou la diminution de pression extérieure permettent à l'air de s'échapper de sa prison, à la fois parce que l'expansibilité de l'air augmente et parce que les lames d'eau, approchant de leur point d'ébullition, se brisent plus aisément.

Mais il est une autre méthode, recommandée d'abord par Schacht et très fréquemment employée, dont il est moins facile de rendre

---

(¹) Cette note a paru dans le *Bulletin de la Société belge de microscopie,* t. XIII, nº 3 (22 décembre 1886).

raison. Elle consiste à immerger la coupe dans de l'alcool absolu. On voit alors les bulles d'air se dégager rapidement et venir crever à la surface de l'alcool.

L'alcool, dans cette opération, se substitue partout à l'eau qui imbibait le tissu. Les deux liquides sont, en effet, parfaitement miscibles, et c'est là une première condition qui intervient dans le phénomène. Pour l'interpréter d'une façon complète, il faut, je pense, faire encore entrer en ligne de compte la tension et la viscosité superficielles.

Les physiciens ont établi, comme on sait, que la couche superficielle d'un liquide est dans un état particulier, différent des couches profondes : comparable à une membrane tendue également dans tous les sens, cette couche est le siège d'une force contractile ou *tension superficielle.*

La tension varie d'un liquide à un autre. Celle de l'eau distillée, par exemple, équivaut à la traction d'un poids de $7^{mgr}5$ par millimètre de longueur ; elle est trois fois plus forte que celle de l'alcool absolu ($2^{mgr}5$), quatre fois plus forte que celle de l'éther ordinaire ($1^{mgr}88$), etc. Si donc, en un point d'une surface mouillée par de l'eau, on dépose une goutte d'alcool, on diminue notablement la tension superficielle en ce point, et les parties environnantes, qui ont conservé leur tension primitive, vont tirer à elles les portions mélangées d'alcool. Il en résultera, à l'endroit alcoolisé, une dépression, un mouvement centrifuge, comme si l'alcool chassait violemment l'eau devant lui. Quand la couche primitive d'eau est peu épaisse, l'objet mouillé par l'eau pourra être mis à nu à la place où l'alcool avait été déposé (1).

C'est précisément ce qui arrive pour nos préparations microscopiques. L'eau, qui couvrait d'une mince couche tous les replis du tissu, fuit, en quelque sorte, devant l'alcool et est partout remplacée par celui-ci.

---

(1) J. Thomson, *Phil. Mag.*, 1855, 4e série, X, p. 330.

Cf. Van der Mensbrugghe, *Sur la tension superficielle des liquides.* (Mém. de l'Acad. roy. de Belgique, t. XXXIV, 1869, §§ 34-35).

La substitution de l'alcool à l'eau s'étend aussi, naturellement, aux minces lames liquides qui limitent les bulles d'air emprisonnées dans le tissu. Ici un troisième facteur intervient : c'est le peu de persistance des lames d'alcool.

Si l'on remplit à moitié d'alcool un de ces flacons à deux tubes connus dans les laboratoires sous le nom de *pissettes*, et qu'on souffle modérément par celui des tubes qui plonge dans le liquide, les bulles d'air ainsi produites, en atteignant la surface de l'alcool, donnent naissance, comme chacun sait, à des calottes liquides creuses. Et l'on s'aperçoit bientôt que ces calottes n'ont qu'une durée très éphémère : elles se brisent presque immédiatement. Lorsqu'on fait la même expérience avec une pissette d'eau distillée, on voit que les calottes, quoique très fugaces, sont un peu plus persistantes. Enfin, avec de l'eau de savon ou une solution aqueuse d'albumine, les calottes sont très durables et forment une véritable mousse.

Or, le liquide qui imbibe les tissus organiques et qui y emprisonne les bulles d'air n'est pas de l'eau pure. C'est de l'eau qui a dissous et enlevé au tissu des matières organiques, parmi lesquelles notamment des substances albuminoïdes. On comprend ainsi pourquoi les bulles d'air, adhérentes aux tissus, persistent si obstinément. Et elles le font d'autant mieux qu'elles sont microscopiques, car les lames liquides ont en général d'autant plus de persistance qu'elles sont moins grandes (¹). Aussitôt l'eau remplacée par l'alcool, les bulles d'air sont mises en liberté, comme dans l'expérience de la pissette, par la rupture des lames d'alcool qui les limitent.

A quoi tient cette persistance inégale des calottes d'alcool, d'eau distillée et d'eau albuminée? Ou, ce qui revient au même, pourquoi certains liquides donnent-ils une mousse durable et d'autres pas? Notre compatriote J. Plateau a élucidé cette question avec sa sagacité habituelle, et, sans entrer dans des détails qui appartien-

---

(¹) J. PLATEAU, *Statique expérimentale et théorique des liquides soumis aux seules forces moléculaires*, 1873, t. II, § 311.

nent à la physique moléculaire, nous pouvons, du moins, résumer les résultats auxquels il est parvenu. Plateau établit que la couche superficielle des liquides, outre sa tension caractéristique, possède une viscosité propre, indépendante, ou à peu près, de la viscosité intérieure (¹). Tantôt cette *viscosité superficielle* est plus grande que la viscosité intérieure (eau, glycérine, solutions de carbonate de soude, d'azotate de potasse, de chlorure de calcium; eau de savon, solution d'albumine, etc.); tantôt elle est plus petite (alcool, éther, essence de térébenthine, sulfure de carbone, etc.). Plateau le démontre par une expérience aussi simple qu'élégante : Quand on écarte de sa position d'équilibre l'aiguille d'une boussole, elle y revient d'autant plus vite qu'elle se meut dans un milieu moins résistant, moins visqueux. Si l'on réalise cette expérience, d'abord en plongeant l'aiguille aimantée sous l'eau et ensuite en lui faisant exactement affleurer la surface du liquide, on constate que pour regagner sa position d'équilibre elle met presque deux fois plus de temps à la surface qu'à l'intérieur de l'eau. Avec l'alcool, au contraire, la durée à la surface n'est que la moitié environ de la durée à l'intérieur. De ces expériences convenablement discutées, Plateau conclut que la viscosité superficielle de l'eau est plus grande que la viscosité intérieure; celle de l'alcool, plus petite.

Ce point reconnu, Plateau arrive, par des considérations ingénieuses, à la théorie suivante (je cite presque textuellement) : Pour qu'un liquide donne des bulles grandes et persistantes, ainsi qu'une mousse volumineuse et durable, il faut que la viscosité propre des couches superficielles de ses lames soit forte, afin que l'amincissement s'opère avec lenteur; il faut, en outre, que la tension superficielle de ce liquide soit relativement faible, afin qu'elle ne puisse vaincre la résistance opposée au déchirement par la viscosité superficielle. Les liquides qui n'ont qu'une faible viscosité superficielle ne donnent ni bulles, ni mousse, parce que leurs lames atteignent en trop peu de temps une ténuité extrême et qu'alors elles se brisent

---

(¹) Plateau, *Op. cit.*, II, § 282.

par les petits ébranlements venus de l'extérieur ou par d'autres causes étrangères (¹).

Tel est précisément le cas de l'alcool.

Résumons nos remarques. Ce qui rend les bulles d'air si persistantes dans une coupe de tissu organique, c'est d'abord leur extrême petitesse; c'est, ensuite, que les minces lames d'eau qui leur servent de prison tiennent toujours en dissolution une certaine quantité de matières organiques : de là, une augmentation de la viscosité superficielle et une diminution de la tension, favorables à la persistance des lames.

Les bulles d'air doivent, en revanche, disparaître promptement, si l'on substitue à l'eau un autre liquide qui jouisse de ces trois propriétés :

1° D'être parfaitement miscible à l'eau;

2° D'avoir une tension superficielle faible, de sorte qu'il aille remplacer l'eau jusque dans les moindres replis du tissu;

3° D'avoir une viscosité superficielle faible, de telle sorte que ses calottes, autour des bulles d'air, se brisent tout de suite.

Essayons de déterminer théoriquement quels liquides conviendront, d'après cela, à l'expulsion des bulles d'air.

Plateau a indiqué une série de liquides qui, au point de vue de l'absence de mousse et de la faible persistance des bulles, forment avec l'alcool une même catégorie (²). Tous ont probablement une viscosité superficielle faible et moindre que la viscosité intérieure. Ce sont : l'alcool, l'éther, l'acide acétique cristallisable, l'acide lactique; puis les huiles grasses, l'essence de térébenthine, la benzine, le chloroforme, le sulfure de carbone, la liqueur des Hollandais (chlorure d'éthylène). Ces derniers, étant peu ou point solubles dans l'eau, ne satisfont pas à l'une des conditions énoncées plus haut. Les quatre premiers liquides nous intéressent donc seuls ici.

(¹) PLATEAU, *Op. cit.*, II, § 259. Voir aussi §§ 292 et suiv.

(²) IDEM., *ibid.*, II, §§ 245 et 274.

La seconde condition est que la tension superficielle soit faible — notablement plus faible que celle de l'eau à laquelle il s'agit de substituer le liquide. L'eau distillée a pour tension 7,5 ; mais nous savons que, dans les tissus, il s'agit d'eau plus ou moins chargée d'albuminoïdes, etc. Cette eau a, par conséquent, une tension voisine de 5,7, chiffre qui correspond à une solution d'albumine (¹). Ceci nous amène à exclure encore, à cause de leur tension relativement élevée, l'acide lactique dont la tension égale 4,2 (²) et l'acide acétique cristallisable qui doit avoir sans doute une tension analogue. Restent l'alcool et l'éther, dont les tensions sont respectivement 2,5 et 1,88.

Si notre explication est exacte, l'éther doit donc, comme l'alcool, chasser rapidement les bulles d'air des préparations. Il le doit d'autant mieux que sa viscosité superficielle est très faible et que sa tension est encore moindre que celle de l'alcool (³). Et, en effet, l'expérience prouve que l'éther fait disparaître, aussi bien que l'alcool, les bulles d'air adhérentes aux tissus.

(¹) Van der Mensbrugghe, *Sur la tension superficielle des liquides,* 1869, p. 58.

(²) Idem., *ibid.*, p. 52.

(³) Il faut noter cependant que l'éther n'est pas miscible avec l'eau *en toutes proportions*, comme l'alcool.

SUR LA VARIATION DU POINT DE COAGULATION DES ALBUMINOÏDES

AVEC DÉMONSTRATIONS EXPÉRIMENTALES

PAR

G. CLAUTRIAU (1)

Un grand nombre de sels modifient la température de coagulation des matières albuminoïdes (2), et parmi ceux-ci, le nitrate d'urée et le sulfate ferreux ont une action particulièrement intéressante.

Les expériences ont porté sur le blanc d'œuf filtré, dilué dans neuf fois son volume d'eau distillée. Ce liquide se coagule vers 60° ; mais, si l'on ajoute au liquide albumineux une quantité très faible de nitrate d'urée, un dix-millième environ, on constate un léger retard dans la température de coagulation. Une dose un peu plus élevée l'abaisse au contraire, et elle ne se produit que vers 55° pour une quantité de $^{10}/_{10\,000}$ de sel. En augmentant alors la proportion du nitrate d'urée, la température se relève de nouveau, très rapidement cette fois, et pour $^{20}/_{10\,000}$ la coagulation se produit à 74°, pour $^{25}/_{10\,000}$ à 90° et pour $^{30}/_{10\,000}$ elle n'a plus lieu. Le liquide à

---

(1) Cette note a paru dans le *Bulletin de la Société belge de microscopie,* t. XVIII, n° 9 (18 juillet 1892).

(2) VARENNE, *Bulletins de la Société chimique de Paris,* t. XLV, p. 427.

$^{30}/_{10\,000}$ de sel, chauffé à 100°, est légèrement opalescent, mais n'est plus coagulable. La quantité de nitrate d'urée continuant à croître, le liquide devient moins opalescent, et entre $^{40}/_{10\,000}$ et $^{50}/_{10\,000}$, il reste presque incolore à l'ébullition. Une concentration plus forte fait reparaître l'opalescence, qui devient très nette quand le liquide renferme $^{70}/_{10\,000}$, mais sans qu'il se produise encore de coagulation. A la dose de $^{80}/_{10\,000}$, le liquide, à l'ébullition, finit par donner une *gelée* opalescente.

Dès que l'on dépasse cette dernière quantité, la température de coagulation diminue rapidement : pour $^{100}/_{10\,000}$ il se forme une gelée à 85°, et à 65° pour $^{120}/_{10\,000}$. Avec $^{130}/_{10\,000}$, la coagulation se produit à 59°, à 49° avec $^{150}/_{10\,000}$, à 41° avec $^{200}/_{10\,000}$, à 34° avec $^{250}/_{10\,000}$, et à partir de $^{300}/_{10\,000}$, elle a lieu immédiatement à la température ordinaire.

En résumé, en variant dans le liquide albumineux la proportion de nitrate d'urée, on peut à volonté empêcher la coagulation, ou l'obtenir à toute température.

Le sulfate ferreux, de son côté, présente la curieuse propriété d'empêcher toute coagulation du liquide albumineux, lorsqu'il se trouve en quantité presque infinitésimale dans celui-ci. Il suffit d'ajouter à une solution aqueuse de blanc d'œuf à $2\ ^{0}/_{0}$, *un millionième* de sulfate ferreux pour que le liquide ne se coagule plus, même à une ébullition prolongée. A la dose du dix-millionième, la coagulation reparaît, de même qu'elle se produit également à la dose du dix-millième.

Si l'on emploie le liquide albumineux à $10\ ^{0}/_{0}$ de blanc d'œuf, la quantité de sulfate ferreux doit être légèrement augmentée.

Au point de vue physiologique et chimique, cette action des sels sur les matières albuminoïdes présente un très grand intérêt.

De plus, au point de vue de la bactériologie, elle permet de préparer des bouillons de culture albumineux facilement stérilisables, et M. Marchal s'occupe en ce moment, à l'Institut botanique, de la culture de divers microbes dans ces nouveaux liquides.

SUR

UN PROCÉDÉ DE STÉRILISATION

A CENT DEGRÉS

DES SOLUTIONS D'ALBUMINE

PAR

Émile MARCHAL (1)

Malgré les progrès constants de la technique bactériologique, la stérilisation des liquides nutritifs albumineux est restée un des points les plus délicats de la pratique des cultures. C'est que le procédé courant en usage dans les laboratoires, la stérilisation à la vapeur, ne peut leur être appliqué, attendu que l'albumine se coagule à une température bien inférieure au point d'ébullition de l'eau.

Dans le but d'obtenir des solutions d'albumine à la fois limpides et bien stérilisées, on a eu recours jusqu'ici à différents artifices. Koch (2) conseille, pour la préparation de milieux nutritifs au sérum sanguin, la méthode des stérilisations fractionnées par chauffages répétés, à une température de 58° à 60°, avec intervalle d'un ou deux jours entre chaque opération. Ce procédé ne présente cependant pas toujours des garanties absolues de sécurité; en effet, contrairement à l'opinion de Cohn, qui admettait qu'au delà de 55° le développement des bactéries est impossible, il existe certains microbes capables de supporter des températures bien supérieures. Miquel (¹) signale un bacille répandu dans les eaux communes, qui se développe fort bien au delà de 70°; d'autre part, Van Tieghem (²) a fait connaître différents bacilles et microcoques végétant parfaitement à 74°. Il faut cependant convenir que ce sont là de rarissimes exceptions, et que les cellules végétatives de l'immense majorité des espèces bactériennes ne supportent pas une température de 60°.

---

(1) Cette note a paru dans le *Bulletin de l'Académie royale de Belgique*, 3e série, t. XXIV, nos 9-10, pp. 323-327, 1892.

(2) Koch, *Berliner klinische Wochenschrift*, 1882, no 15.

La stérilisation à froid, par filtration à travers le plâtre ou les bougies Chamberland, imaginée par Pasteur (³) et mise en pratique par Duclaux dans ses belles études sur le lait, permet d'obtenir des solutions d'albumine très limpides et parfaitement stérilisées; mais elle présente l'inconvénient de rendre très délicates les manipulations ultérieures, et notamment le remplissage des ballons de culture.

Enfin, tout récemment, M. Wollny (⁴) proposait, pour la stérilisation à froid, l'emploi de certains agents chimiques, en particulier de l'éther éthylique. Le liquide à stériliser est additionné de 10 à 12 °/₀ d'éther; après quelque temps de contact, celui-ci est éliminé par une douce chaleur ou par l'action d'une pompe à air. Quoi qu'en dise M. Wollny, ce procédé ne nous semble pas offrir toute garantie. L'éther n'a pas, en effet, une action bien énergique sur les bactéries : leur activité vitale est suspendue momentanément sans être complètement annihilée. Les expériences de Jalan de la Croix (⁵) et de Koch (⁶) montrent que les spores, notamment, peuvent résister pendant longtemps à l'action des anesthésiques;

---

(1) Miquel, *Monographie d'un bacille vivant au delà de 70 degrés centigrades.* (Annales de micrographie, 1888.)

(2) Van Tieghem, *Sur les bactériacées vivant à la température de 74 degrés.* (Bul. de la Soc. Botanique de France, 1881, p. 35.)

(3) Pasteur et Joubert, *Comptes rendus*, t. LXXXV, p. 101.

(4) Wollny, *Auf kaltem Wege sterilisirte eiweisshaltige Nährböden.* (Centralblatt f. Bakteriol. und Parasitenkunde, Bd XI, juin 1892.)

(5) Jalan de la Croix, *Das Verhalten der Bacterien des Fleischwassers gegen einige Antiseptica.* (Archiv f. experim. Pathologie, 1881, p. 175.)

(6) Koch, *Cohn's Beiträge zur Biologie der Pflanzen,* Bd II, Heft 2.

d'après Koch, les spores du *Bacillus anthracis* résistent pendant plus de huit jours à celle de l'éther.

Vu l'insuffisance de ces différentes méthodes, nous nous sommes efforcé d'appliquer le procédé classique de stérilisation à 100° aux solutions de blanc d'œuf, en évitant la coagulation. Les recherches de M. Varenne (1), reprises tout récemment à l'Institut botanique de Bruxelles par M. le D^{r} Clautriau (2), nous ont suggéré l'idée d'utiliser l'action de certaines substances sur la coagulation de l'albumine pour la stérilisation des solutions de blanc d'œuf. On sait que ces dernières, soumises à l'action de la chaleur, se coagulent vers 60°; un grand nombre de sels modifient cette température de coagulation; bien plus, il en est qui, employés à des doses déterminées, empêchent toute précipitation, même à 100°; tels sont le borate de soude, le sulfate ferreux, le nitrate d'urée.

Voici les quantités de ces substances à employer dans ce but :

Solutions de 2 à 5 °/o :

Borate de soude	$0^{gr}05$	par litre.
Sulfate ferreux	$0^{gr}001$ à $0^{gr}006$	—

Solutions à 10 °/o :

Nitrate d'urée.	4 à 5 grammes par litre.

Les liqueurs ainsi préparées pourront être stérilisées directement à 100° dans les ballons de culture (3).

Lorsque la solution d'albumine doit servir simplement de bouillon nutritif, on peut employer le nitrate d'urée pour empêcher la coagulation; au contraire, lorsqu'elle doit être utilisée pour des recherches sur la nutrition azotée ou sur les fermentations des matières albuminoïdes, afin de ne pas introduire un nouvel aliment azoté, on fera usage du borate de soude ou du sulfate de fer. D'après Jalan de la Croix (1), Miquel (2) et Richet (3), qui en ont étudié les propriétés antiseptiques, ces corps, aux doses où ils sont employés ici, ne peuvent avoir aucune action nuisible sur le développement des bactéries. Les essais de culture que nous avons faits nous ont donné la conviction que les solutions ainsi préparées constituent d'excellents milieux nutritifs appropriés à la culture d'un grand nombre de microbes.

---

(1) VARENNE, *Recherches sur la coagulation de l'albumine de l'œuf.* (BULL. DE LA SOCIÉTÉ CHIMIQUE DE PARIS, 1886, t. XLV, p. 427.)

(2) CLAUTRIAU, *Sur la variation du point de coagulation des albuminoïdes.* (BULL. DE LA SOC. BELGE DE MICROSCOPIE, 1892, t. XVIII, n° IX.)

(3) Des essais ultérieurs ont montré que la stérilisation peut même être faite à 115° et jusqu'à 130°. [Note ajoutée à la réimpression.]

Ce fait n'a d'ailleurs rien d'étonnant, étant donnée leur richesse en principes nutritifs.

Voici quelle serait la composition d'une solution à 5 °/₀ de blanc d'œuf, d'après Gautier (4) :

Eau	993,34
Matières albuminoïdes	6,13
Matières extractives	0,19
Glycose.	0,25
Graisse	traces
Sels minéraux.	0,33

Ces derniers comprennent toutes les matières minérales indispensables au développement des microbes.

Il nous semble donc que l'*albumine incoagulable,* ainsi qu'on pourrait l'appeler, constitue un milieu nutritif qui mérite de fixer l'attention des bactériologistes ; il présente l'avantage d'être d'une préparation très simple et beaucoup plus rapide que celle des bouillons ordinairement en usage dans les laboratoires.

Institut botanique de Bruxelles, août 1892.

---

(1) Jalan de la Croix, *loc. cit.*

(2) Miquel, *Antiseptiques et bactéries.* (Semaine médicale, 1888.)

(3) Richet, *De l'action toxique comparée des métaux sur les microbes.* (Comptes rendus de l'Académie des sciences, t. XCVII, p. 1004.)

(4) Gautier, *Chimie biologique,* p. 699.

RECHERCHES
SUR LA
TECHNIQUE MICROCHIMIQUE
DES ALBUMINOÏDES

PAR

A. DE WÈVRE (1)
DOCTEUR EN SCIENCES NATURELLES

Les matières albuminoïdes, que l'on appelle encore protéiques, étant les principes fondamentaux des êtres vivants, leur caractérisation, leur localisation et la recherche de leur constitution devaient naturellement tenter de nombreux chercheurs et donner lieu à la publication d'un grand nombre de travaux.

Le présent travail a eu pour but de rechercher quels sont les réactifs propres aux albuminoïdes, quels sont les plus sensibles et de quelle manière ils doivent être employés microchimiquement pour fournir des résultats certains.

La plupart des auteurs se basent ordinairement, pour indiquer si tel ou tel élément renferme des matières albuminoïdes, sur les indications d'un ou de deux réactifs; cela est tout à fait insuffisant. Il ne faut pas seulement employer plusieurs réactifs, mais encore s'en servir d'une façon convenable.

---

(1) Cette note a été publiée dans le *Bulletin de la Société belge de microscopie,* t. XX, nº 4 (15 janvier 1894).

Enfin, depuis les derniers travaux parus sur la microchimie des albuminoïdes, plusieurs réactions histochimiques ou chimiques nouvelles ont été indiquées, et il était nécessaire de les vérifier.

Ces recherches ont été faites sur des éléments riches en albuminoïdes de réserve, tels que le Pois, le Ricin, le Maïs, le Froment.

En outre, j'ai étudié le contenu des tubes criblés de *Cucurbita pepo*, les laticifères du *Carica Cundinamarcencis* et de diverses autres plantes, le point végétatif de la racine de quelques végétaux (Avoine, Froment).

Indiquons maintenant les divers réactifs chimiques qui ont été signalés. On peut les diviser en :

1° Réactifs coagulants;

2° Réactifs précipitants;

3° Réactifs colorants.

Les RÉACTIFS COAGULANTS sont ceux qui, ajoutés à une solution d'albumine, déterminent sa solidification sous forme de grumeaux, de flocons ou de combinaison; tels sont :

1° L'*alcool*, qui agit d'autant mieux que sa concentration est plus élevée. L'addition d'acide tartrique (¹) ou d'un autre acide renforce encore son action;

2° Le *chloral;*

3° Les *acides minéraux* (sauf l'acide orthophosphorique) coagulent tous les albuminoïdes; certains corps voisins des substances protéiques font exception : tels sont la peptone et la gélatine;

4° Le *sulfate d'ammonium* en solution concentrée précipite complètement tous les albuminoïdes de leurs solutions (les peptones exceptés).

Les RÉACTIFS PRÉCIPITANTS donnant lieu à une séparation des matières protéiques, sous forme de combinaison, sont :

1° *Un grand nombre de solutions salines*, notamment celles de mercure, de cuivre, de plomb, d'argent, de platine, d'acétate d'urane, qui précipitent toutes les solutions des corps protéiques

---

(¹) L. ERRERA, *Sur la distinction microchimique des alcaloïdes et des matières protéiques*. (ANN. DE LA SOC. BELGE DE MICROSCOPIE, t. XIII, 2ᵉ fascicule, 1889.)

(les peptones et la gélatine ne sont pas précipitées par les sels de cuivre). Les corps formés sont de véritables combinaisons, qui parfois jouissent de la propriété de se dissoudre dans un excès du précipitant;

2° Le *tannin* forme avec eux des tannates, comme il le fait aussi avec beaucoup d'alcaloïdes;

3° L'*acide picrique* en solution aqueuse ou légèrement alcoolisée est un bon réactif des substances protéiques, avec lesquelles il produit des précipités jaunes;

4° Le *ferrocyanure de potassium* et l'*acide acétique* donnent lieu à la formation d'un précipité blanc qui sépare complètement la substance protéique. Ce réactif ne précipite ni les peptones, ni la gélatine. D'après M. Gautier, il peut déceler $^1/_{50\,000}$ à $^1/_{90\,000}$ d'albuminoïde;

5° L'*iodure de potassium iodé* est l'un des meilleurs réactifs des albuminoïdes; il les précipite tous instantanément en brun. Je me suis très bien trouvé de la solution suivante : iode métallique, 1; iodure de potassium, 3; eau, 100; ce mélange se conserve très bien;

6° La solution de phosphomolybdate de sodium dans l'acide nitrique constitue un réactif d'une extrême sensibilité, de même que le phosphotungstate de sodium acide; il peut signaler de $^1/_{100\,000}$ à $^1/_{200\,000}$ d'albuminoïdes.

La solution employée était préparée de la façon suivante : 1 gramme de phosphomolybdate de soude, 90 grammes d'eau distillée et 5 grammes d'acide nitrique concentré; on laisse en repos pendant quelques jours, puis on filtre.

Le précipité jaunâtre obtenu à l'aide de ce réactif ne se forme que lentement; on n'obtient d'abord qu'un trouble, et ce n'est qu'au bout de plusieurs heures que le précipité s'est rassemblé au fond du tube. Le réactif se conserve bien;

7° Le *réactif de Meyer* ou iodure double de mercure et de potassium est aussi très sensible; il produit un précipité blanc. On le prépare en dissolvant de l'iodure mercurique dans une solution d'iodure de potassium;

8° L'*iodure de bismuth et de potassium* donne un précipité jaunâtre ou orangé. Le réactif s'obtient en dissolvant à chaud de l'iodure de bismuth dans une solution saturée d'iodure de potassium ;

9° L'*iodure double de cadmium et de potassium*. Pour préparer le réactif, il suffit de dissoudre de l'iodure de cadmium à saturation dans une solution concentrée bouillante d'iodure de potassium ;

A cette liste, nous pouvons joindre la réaction de Zacharias, et celle de l'acide salicylsulfonique, qui ne sont que la coloration d'un précipité ;

10° *Réaction de Zacharias*. Elle consiste à précipiter l'albuminoïde par un mélange fait extemporanément de 1 partie d'une solution de ferrocyanure de potassium à $^1/_{100}$, d'une partie d'eau et d'une partie d'acide acétique du poids spécifique de 1.063 ; le précipité obtenu est ensuite lavé avec de l'alcool à 60 %, jusqu'à ce que les eaux de lavage cessent de se colorer au contact des sels ferriques, après quoi il est mis en contact avec du perchlorure de fer qui le colore en bleu ;

11° *Acide salicylsulfonique*. Ce réactif a été indiqué par Roch, en 1889. On traite la substance supposée albuminoïde par une solution aqueuse concentrée d'acide salicylsulfurique. D'après l'auteur, il doit se former un précipité blanc à réaction acide qui, mis en contact avec du perchlorure de fer, se colore en rouge intense.

RÉACTIFS COLORANTS. Nous pouvons distinguer deux groupes de réactifs colorants :

A. Ceux qui colorent les matières protéiques en se fixant sur ces corps ;

B. Ceux qui déterminent un dédoublement, forment des corps colorés ou susceptibles de se colorer par le réactif.

A. Dans la première catégorie, je place :

1° Le *violet de Hanstein*, qui teinte le protoplasme en violet pourpre.

2° L'*éosine*, colorant les albuminoïdes en rouge.

3° Les *colorants indiqués par M. Vines*, c'est-à-dire le carmin, la cochenille et une solution aqueuse de bleu d'aniline.

4° Le *brun de Bismarck*, le *bleu de chinoléine*, le *dahlia* et la *fuchsine*, en solutions aqueuses, sont également absorbés par les matières protéiques. La plus sensible et celle qui, à mon avis, donne les résultats les plus concluants est une solution aqueuse d'éosine; mes recherches semblent prouver qu'elle ne colore guère que les matières albuminoïdes.

B. Dans le deuxième groupe, on trouve les réactifs plus particuliers des albuminoïdes ; ce sont :

1° L'*acide nitrique* concentré ou légèrement dilué, au contact duquel les substances protéiques se colorent en jaune, par suite de la formation d'acide xanthoprotéique. Si l'on neutralise ensuite par l'ammoniaque, on obtient du xanthoprotéitate d'ammonium, dont la coloration est plus foncée.

2° *Réaction de Millon.* Ce réactif fut indiqué, en 1849, par Millon ; il se prépare en dissolvant 1 centimètre cube de mercure dans 9 centimètres cubes d'acide azotique concentré (poids spécifique de 1.52); on étend ensuite cette solution de son volume d'eau distillée.

On dépose un peu de ce liquide sur la substance à essayer, puis on soumet à une douce chaleur ; s'il y a une matière protéique, on voit apparaître une coloration rouge-brique très intense ; s'il n'y a que peu de substance, elle est rose.

Ce réactif s'altère à la longue ; pour lui rendre sa vigueur primitive, il suffit, d'après Salkowski, d'y ajouter quelques gouttes d'une solution de nitrite de potasse.

Deux autres réactifs ressemblent à celui de Millon et donnent des résultats identiques; il n'y a guère que le mode de préparation qui soit différent ; ce sont : le réactif d'Hoffmann, indiqué en 1853 (dissolution d'oxyde de mercure dans de l'acide nitrique renfermant des traces d'acide nitreux), et le réactif de Pflügge, qui est une solution d'oxyde mercureux dans de l'acide nitrique additionné de traces d'acide nitreux.

De ces trois réactifs, c'est celui de Millon qui semble le meilleur, et c'est lui que j'ai surtout employé.

Cette réaction n'est plus sensible au-dessus de $^1/_{2500}$ d'albumine (A. Gauthier).

3° L'*acide chlorhydrique* concentré est l'un des plus anciens réactifs des matières protéiques. Il les colore à chaud en violet rougeâtre intense. Selon les indications de Wormster (*Berichte* de 1889, p. 29), cette réaction s'obtient beaucoup plus rapidement si l'on ajoute à l'acide chlorhydrique $^1/_{10}$ à $^1/_5$ de son volume d'acide sulfurique concentré.

M. Jorissen a indiqué une réaction qui n'est qu'une variante de la précédente; comme je n'ai point vu de différence entre son action et celle de l'acide chlorhydrique, je ne la décrirai point.

4° *Réaction de Raspail*, appelée aussi à tort réaction de Pettenkofer. L'acide sulfurique seul ne donne pas de réaction colorée avec les albuminoïdes, mais en présence d'un peu de sucre de canne, en fragments ou en solution concentrée, il donne lieu à une coloration rouge ou rouge-carmin. Cette réaction fut introduite dans la science en 1829 par Raspail. Au lieu de saccharose, on peut employer d'autres sucres, notamment de la glycose.

L'acide sulfurique peut être remplacé par de l'acide chlorhydrique.

On peut rapprocher de la réaction de Raspail une réaction indiquée récemment par M. Mesnard; il en sera question plus loin.

5° *Réaction d'Adamkiewicz.* Les matières protéiques traitées par un excès d'un mélange d'acide sulfurique concentré et d'acide acétique glacial, à parties égales, se dissolvent en donnant lieu à la production d'une coloration pourpre, à reflets verts.

Wormster indique l'addition de chlorure de sodium comme facilitant la réaction;

6° *Réactif de Fröhde.* Ce réactif est connu depuis 1868 : c'est une solution de 5 milligrammes de molybdate de soude dans 1 centimètre cube d'acide sulfurique concentré; au contact de ce liquide, les substances protéiques se colorent en bleu foncé;

7° *Réaction de Reichel et Mikosch.* C'est l'une des plus récentes, elle date de 1890. Le mode opératoire consiste à traiter la substance soupçonnée albuminoïde par 20 gouttes d'une solution alcoolique de benzaldéhyde (l'alcool ne doit renfermer que des traces de benzaldéhyde), puis à ajouter un excès d'acide sulfurique dilué de son volume d'eau et renfermant des traces de sulfate ferrique. On obtient une coloration bleue intense s'il y a des matières albuminoïdes. Pour que la réaction marche rapidement, il est bon de chauffer légèrement le mélange.

Dans cette réaction, on peut remplacer l'acide sulfurique par de l'acide chlorhydrique concentré, mais dans ce cas, au lieu de sulfate ferrique, on met du chlorure.

On peut de même substituer à l'aldéhyde benzoïque, l'aldéhyde salicylique, le chlorure de benzoïle ou le phénylchloroforme, mais alors il faut employer du sulfate ferreux et non du sulfate ferrique. La réaction marche aussi avec l'anisaldéhyde, la vanilline et la cynnamilaldéhyde, seulement les colorations obtenues ne sont pas les mêmes. Je ne me suis servi que de benzaldéhyde ; ce réactif m'a donné de très bons résultats. Il se conserve bien, si l'on a soin de mettre les solutions dans deux flacons, l'un renfermant la solution alcoolique de benzaldéhyde, l'autre l'acide sulfurique dilué avec traces de sulfate ferrique.

Reichel indique la réaction comme étant encore perceptible avec une solution d'albumine d'œuf à $^1/_{16}$, mais ne l'étant plus avec une solution à $^1/_{32}$.

8° *Réaction du biuret.* Cette réaction, trouvée d'abord pour le biuret par Wiedemann, fut ensuite reconnue pour les albuminoïdes en 1855 par Humbert, puis par Piotrowsky (1857), et enfin par Vintschau (1857).

La réaction du biuret s'effectue en ajoutant à la solution albumineuse une trace de sulfate de cuivre, de façon à ce que le liquide paraisse incolore, puis un excès d'une solution concentrée de potasse caustique ; sous l'influence de cette dernière, on voit naître une coloration mauve ou violacée, plus ou moins foncée.

M. A. Gauthier renseigne ce réactif comme n'étant sensible que pour des solutions renfermant au moins $^1/_{10000}$ d'albuminoïde.

9° *Réaction de Guezda.* Cette réaction est du même genre que la précédente. On met la substance supposée albuminoïde au contact d'une solution concentrée de sulfate de nickel saturée d'ammoniaque.

Ce liquide teint en jaune ou en bleu les matières protéiques, la coloration bleue passe au jaune orangé par l'addition d'une solution de potasse caustique ;

10° *Réaction d'Axenfeld* [1]. Les matières albuminoïdes chauffées avec une solution de chlorure d'or au $^1/_{1000}$ plus une ou deux gouttes d'acide formique donnent lieu à la production d'un liquide rose qui devient bientôt rouge pourpre, puis bleu et finalement laisse déposer des flocons bleus. Cette réaction est excessivement sensible, elle permet de caractériser $^1/_{2\,000\,000}$ d'albumine.

11° L'*alloxane* (mésoxalylurée) a été indiquée en 1886 par M. Krasser comme étant le réactif le plus caractéristique des substances protéiques, qui prennent en sa présence une coloration rouge pourprée.

Si l'on avait à dissoudre des matières albuminoïdes, on aurait recours à une solution de potasse, ou mieux (en microchimie) à de l'eau de javelle.

Un moyen de dissoudre et en même temps de caractériser les substances protéiques consiste à les transformer en peptones, que l'on caractérise ensuite. Le mode opératoire est le suivant : on fait une solution glycérinée de pepsine ou de pancréatine, dont on prend une certaine quantité, et, après l'avoir diluée de trois fois son volume d'eau et additionnée de 2 °/₀ d'acide chlorhydrique, on la met en digestion à une température d'au moins 35° avec la substance albuminoïde, après avoir ajouté un peu de chloroforme ou d'essence de cannelle pour empêcher le développement des microbes. Au bout de quelques heures, la solution est complète.

Technique microchimique.

Les réactifs des substances protéiques étant connus, il nous reste à examiner leur emploi en microchimie, puis à comparer les résultats obtenus.

De tous les réactifs coagulants, c'est l'*alcool* qui est le plus employé et celui qui donne les meilleurs résultats. Pour la recherche des albuminoïdes, il est bon de faire usage d'alcool absolu, car on a indiqué des substances protéiques solubles dans l'alcool dilué, et de plus cet alcool a l'avantage de produire une coagulation complète et instantanée.

---

[1] Axenfeld, *Sur une nouvelle réaction de l'albumine.* (Journal de pharmacie d'Anvers, 1886, p. 317).

On y plonge les organes entiers et on les y laisse quelques jours; pour les laticifères, on aura soin d'éviter les blessures, on laissera les organes pendant deux ou trois jours.

L'alcool enlève des tissus un très grand nombre de corps : les résines, les tannins, les huiles essentielles, la chlorophylle, la phloroglucine, certaines matières colorantes, parfois des graisses, les alcaloïdes, etc. Pour les alcaloïdes, il convient, si l'on veut les enlever complètement, d'ajouter à l'alcool 5 °/₀ d'acide tartrique, ce qui favorise la coagulation des albuminoïdes et débarrasse les cellules des composés alcaloïdiques (¹).

Outre les matières protéiques, d'autres corps, fréquents dans les cellules, sont précipités par l'alcool ; tels sont : les diastases, le caoutchouc, les gommes, les matières pectiques, les mucilages, les hydrates de carbone, l'asparagine, les corps gras, des acides organiques, l'hespéridine, l'inuline, etc. Les huiles grasses et les cires sont insolubles dans l'alcool froid ; pour en débarrasser les tissus, il est nécessaire de les faire bouillir dans de l'alcool absolu ou de laisser les coupes séjourner pendant un certain temps dans de l'éther ou du chloroforme.

Pour enlever les substances autres que les albuminoïdes, il faudra faire suivre le traitement par l'alcool d'un traitement par l'eau bouillante ; on enlèvera de cette façon les matières pectiques solubles, les gommes, les hydrates de carbone, les diastases, etc.

On parvient ainsi à avoir des tissus ne renfermant plus guère que des albuminoïdes, sauf dans les laticifères, où il y a parfois des caoutchoucs, des gutta perchas, et dans quelques autres cas spéciaux.

Toutes mes réactions ont été faites sur des tissus frais et sur des tissus ayant séjourné au moins quinze jours dans de l'alcool absolu ;

(¹) L. Errera, *Loc. cit.*, pp. 80 et 85.

celles qui paraissaient douteuses ont été refaites sur des coupes ayant été soumises à une ébullition successive dans l'alcool absolu et dans l'eau.

Réactifs précipitants.

Une solution aqueuse concentrée d'*acide picrique*, additionnée d'un peu d'alcool pour favoriser la solution, peut rendre des services.

Le mode opératoire consiste tout simplement à placer les coupes (traitées d'abord par l'alcool tartrique ou bouillant, et par l'eau bouillante) dans la solution picrique, pendant quelques heures, parfois un jour. On les examine ensuite dans l'eau ou dans la glycérine; la coloration se maintient pendant quelque temps dans ce dernier milieu.

Ce réactif m'a permis de mettre très nettement en évidence le protoplasme des tubes criblés et celui des cellules qui bordent le liber chez les *Cucurbita pepo*. Dans l'albumen du Ricin, il colore les cristalloïdes en jaune et donne au protoplasme une teinte plus foncée; la couche, dite à gluten, du Blé est fortement teintée.

On constate au point végétatif de la racine du Pois une très forte accumulation de matières protéiques. Les cellules des cotylédons du Pois renferment énormément d'albuminoïdes, comme on le sait; cependant la coloration obtenue n'est guère aussi intense que celle produite chez les plantes précédemment citées, ce qui nous indique que la conglutine diffère quelque peu des autres albuminoïdes; c'est d'ailleurs ce que nous observerons encore dans la suite.

Ce réactif peut donc être utilisé très avantageusement pour localiser les principes dont nous nous occupons.

L'emploi du tannin pour la détection microscopique des albuminoïdes est parfaitement inutile, les précipités qu'il forme étant incolores et par suite peu visibles; de plus, ce réactif est propre à d'autres corps, notamment aux alcaloïdes; enfin, sa sensibilité n'est pas très grande.

L'*acide phosphomolybdique* jouit d'une très grande sensibilité et peut parfaitement être utilisé pour les recherches microchimiques. La manière d'opérer est très simple : on dépose ses coupes dans la solution nitrique d'acide phosphomolybdate de sodium, on les y laisse une ou deux heures, puis on les examine, soit dans l'eau, soit dans la glycérine. S'il y a des albuminoïdes, on voit le contenu cellulaire devenir granuleux et prendre une teinte jaunâtre.

La réaction peut aussi se faire immédiatement sous le microscope, en faisant arriver l'acide par les bords de la lamelle : de cette manière, la précipitation s'effectue sous les yeux; cette réaction s'opère surtout avec les tissus vivants, pour voir si l'aspect granuleux est réellement dû à la formation bien précipitée.

En employant ce réactif, il convient de se souvenir qu'il précipite encore d'autres corps; il sera donc bon de suivre le mode opératoire indiqué plus haut, pour se débarrasser de ces corps.

Cette réaction ne se conserve pas; au bout de fort peu de temps les tissus deviennent bleus.

Iodure de potassium iodé. — C'est le meilleur de tous les réactifs précipitants, et l'on peut même dire le plus sensible de tous les réactifs microchimiques employés pour ces recherches; aussi convient-il de le faire agir en tout premier lieu.

Si l'on observe que l'iodure de potassium iodé a donné lieu en certains endroits à la production d'une teinte brune, plus ou moins foncée, on peut supposer qu'il s'y trouve une quantité assez considérable d'albuminoïdes, d'alcaloïdes, de diastases, de corps gras et d'érythro-dextrine ou de glycogène, ce dont il sera facile de s'assurer.

Après ces traitements, si la teinte brune réapparaissait sous l'influence de l'iode, on pourrait être à peu près certain que l'on se trouve en présence de substances protéiques, ce que l'on contrôlera au moyen d'autres réactifs.

Lorsque l'iodure de potassium iodé ne donne lieu qu'à la production d'une teinte jaune pâle, les matières albuminoïdes sont en quantité si minime que les autres réactifs ne donneront que des résultats négatifs.

La façon de l'employer est de la plus grande simplicité; il suffit, en effet, de déposer une goutte du réactif sur les coupes et d'examiner immédiatement, le résultat étant instantané.

Ce réactif m'a permis d'apercevoir les fils protoplasmiques qui traversent les plaques criblées.

Son emploi pour la recherche des substances albuminoïdes est à recommander; la coloration qu'il leur communique ne se maintient que fort peu de temps.

Réaction d'Axenfeld. — Cette réaction a été indiquée en macrochimie pour la caractérisation des matières protéiques; j'ai fait quelques recherches afin de constater si l'on pouvait l'utiliser en microchimie et si les résultats fournis étaient propres aux albuminoïdes.

Si l'on dépose une goutte de chlorure d'or renfermant des traces d'acide formique sur une coupe, recouverte d'une lamelle, qu'on chauffe légèrement, on constate pour le ricin, par exemple, l'apparition d'une coloration violette intense. Examinées au microscope, les coupes montrent non seulement le contenu cellulaire coloré, mais aussi les parois. Le même fait se reproduit avec des coupes bouillies successivement dans l'alcool et dans l'eau, puis traitées par l'eau de javelle: elles montrent encore la coloration bleue des membranes.

En faisant la réaction sur des tiges de *Cucurbita*, j'ai vu le contenu des tubes criblés, ainsi que les plaques criblées, se colorer en rouge violacé, mais diverses membranes, notamment celles qui étaient lignifiées, présentaient le même fait.

Contre les parois des cellules parenchymateuses à parois minces, on observait un précipité bleuâtre; était-il dû au protoplasme, ou provenait-il, comme je le crois, de la réduction du réactif? En effet, si l'on prend de l'ouate et qu'on la fait bouillir dans la mixture d'Axenfeld, elle devient d'un bleu violacé et, examinée au microscope, se montre recouverte d'un précipité bleuâtre d'or réduit.

Donc le réactif d'Axenfeld n'est pas propre aux albuminoïdes; certaines membranes jouissent de la même propriété ainsi que diverses substances, des glycosides (¹), des alcaloïdes, des composés amidés (²).

(¹) La vanilline et la coniférine donnent une coloration bleue suivie d'une précipitation d'or métallique.

(²) L'asparagine amène une magnifique coloration bleue suivie de la formation d'un précipité bleu.

La papaïne a donné une coloration violette intense suivie de précipitation. La gomme arabique et le sucre n'ont point eu d'influence sur le réactif.

Le chlorure d'or peut être utilisé pour la recherche des albuminoïdes, mais il n'est guère à conseiller.

Les préparations se conservent plus de huit jours dans la glycérine.

Réaction de Zacharias. — Elle est basée sur la précipitation des substances protéiques par une solution de ferrocyanure potassique, additionnée d'acide acétique, et sur la coloration du précipité par le perchlorure de fer.

La façon d'opérer consiste à laisser séjourner les coupes pendant une heure dans le ferrocyanure de potassium acétique, puis à les laver soigneusement avec de l'alcool à 60°, jusqu'à ce que ce dernier ne se colore plus en bleu par le perchlorure de fer; ces lavages terminés, les coupes sont ensuite placées dans une solution aqueuse, diluée de perchlorure de fer, qui détermine la production d'un précipité bleu là où se trouvent des matières albuminoïdes.

On obtient parfois de bons résultats à l'aide de ce traitement; je dois cependant faire remarquer que certaines membranes, celles de la graine de Ricin, par exemple, se colorent aussi; de plus, la combinaison ferrocyanhydrique, formée par certaines matières protéiques, est fort peu stable et se trouve détruite et enlevée par l'alcool à 60°.

On ne pourra avoir confiance en ce réactif qu'après avoir fait bouillir les coupes dans l'eau, puis dans l'alcool, car les alcaloïdes sont, eux aussi, précipités par le ferrocyanure.

Le précipité bleu persiste assez longtemps dans la glycérine.

Acide salicylsulfonique (1). — Les essais faits avec cette substance ne m'ont point donné les résultats indiqués par l'auteur.

Les autres précipitants indiqués précédemment ne sont pas à recommander, car ils sont peu sensibles et peu nets.

---

(1) Le produit dont je me suis servi provenait de la maison Schuchardt.

Réactifs colorants.

Éosine. — Cette substance est connue depuis longtemps comme étant un colorant des matières protéiques; les recherches que j'ai faites m'ont prouvé que c'était leur meilleur réactif indicateur.

Pour la recherche microchimique des albuminoïdes à l'aide de cette substance, il convient d'employer une solution aqueuse très faible. On place les coupes à colorer dans une certaine quantité de ce liquide, et on les y laisse pendant un temps plus ou moins long, suivant l'intensité de coloration que l'on désire avoir (une heure suffit ordinairement avec un liquide très dilué). Les coupes sont ensuite placées dans l'eau, ou mieux dans la glycérine. Après un séjour d'une heure ou deux dans ce dernier milieu, on obtient une localisation plus nette et plus apparente.

Les cristalloïdes du Ricin prennent un coloration rouge intense à la suite de ce traitement.

On peut dire que l'éosine décèle la moindre trace de substance albuminoïde; elle colore très nettement celles du Ricin, du Pois, du *Cucurbita*, de divers latex, etc.

Cette réaction s'obtient tout aussi bien après ébullition des coupes dans l'eau et l'alcool qu'avant ce traitement.

Les huiles, les résines, les mucilages, les gommes, les matières pectiques ne se colorent pas sous son influence; l'amidon prend parfois une légère teinte rosée.

Acide chlorhydrique. — Cet acide est reconnu depuis fort longtemps comme l'un des meilleurs réactifs des albuminoïdes. Ce corps ne peut cependant être utilisé, car les teintes produites sont trop faibles pour être perçues.

Il arrive cependant que l'on obtienne une coloration rose ou rosée, là où se trouvent des matières albuminoïdes : c'est lorsque dans le voisinage de celles-ci il existe du sucre; l'addition d'acide chlorhydrique détermine alors la réaction de Raspail. L'acide sulfurique agit de même.

En outre, les divers albuminoïdes ne réagissent pas de la même façon vis-à-vis de l'acide chlorhydrique. D'après M. Krasser, la mucédine de l'Orge donne une coloration rouge foncé, la fibrine du Maïs une solution brunâtre; la farine d'Avoine une solution incolore, la légumine de Vesce une solution brune; la gliadine une solution bleuâtre tirant sur le brun; de plus, certains produits non albuminoïdes, le scatol, par exemple, prennent une teinte violette.

J'ajouterai que la physostigmine, la sabadilline, la sabatrine, la solanine, la vératrine, la convallamarine et la scillaïne prennent une coloration rouge sous son influence et que la coniférine devient bleue.

Le *réactif de Jorissen* (acide chlorhydrique, chlorure de zinc et eau) n'agit que par l'acide chlorhydrique qu'il renferme; il n'est pas utilisable en microchimie.

Réaction de Raspail. — La recherche des albuminoïdes par cette méthode se fait de la façon suivante : on place les coupes, pendant une demi-heure environ, dans une solution très concentrée de sucre de canne, puis on les retire, on les sèche au moyen de papier buvard et on les recouvre d'acide sulfurique concentré; j'ai pu constater la présence de matières protéiques dans les tubes criblés de *Cucurbita* à l'aide de ce mélange. Le réactif de Raspail colore beaucoup d'alcaloïdes en rouge.

Réaction de Mesnard. — Tout récemment, M. Mesnard a indiqué une nouvelle méthode pour rechercher les albuminoïdes au microscope; elle revient, en somme, à la réaction de Raspail. Voici en quoi elle consiste : on dépose une goutte d'une solution de glycérine très sucrée sur une lamelle et l'on y place les coupes à essayer.

La lamelle est ensuite exposée pendant une heure ou deux aux vapeurs d'acide chlorhydrique. On forme une sorte de chambre humide à l'aide d'un segment de tube assez large, que l'on soude sur une lame de verre et sur lequel est déposée la lamelle, après avoir versé un peu d'acide chlorhydrique fumant dans le petit godet ainsi formé.

J'ai essayé cette réaction sur le Ricin et sur le Pois, et j'ai obtenu des résultats plus nets qu'avec la méthode Raspail; la réaction se produit fort bien après le traitement des coupes par l'alcool bouillant et l'eau bouillante.

Elle est à employer de préférence à celle de Raspail, car elle abîme moins les coupes.

On ne doit pas perdre de vue que toutes les substances signalées à propos du réactif de Raspail réagiraient évidemment vis-à-vis de celui de M. Mesnard.

Acide nitrique. — Grâce à la propriété que possède cet acide de transformer les matières albuminoïdes en acide xanthoprotéique, corps jaune bien visible, insoluble dans l'eau, l'alcool et l'éther, il constitue un excellent réactif microchimique. Le mode opératoire qui réussit le mieux est le suivant : on prend une solution nitrique formée de trois parties d'acide nitrique concentré et une partie d'eau (1), on y met les coupes jusqu'à ce que l'on s'aperçoive qu'elles jaunissent, ce qui arrive au bout de quelques minutes, on les retire alors, et si la coloration est trop faible, on la renforce en les plongeant dans de l'eau légèrement ammoniacale, ce qui donne lieu à la formation de xanthoprotéate d'ammonium. Il convient de ne mettre que fort peu d'ammoniaque, pour ne pas abîmer les tissus, les parois de certaines cellules se gonflant sous son influence. La rhodospermine se colore, paraît-il, en présence d'ammoniaque seule.

Les coupes s'observent ensuite dans l'eau ou dans la glycérine; le premier milieu m'a semblé préférable.

J'ai vu la coloration persister quelques jours dans la glycérine.

Ce réactif m'a donné d'excellents résultats avec tous les végétaux sur lesquels je l'ai essayé; la coloration variait du jaune pâle au jaune d'or, suivant la quantité de matières protéiques.

---

(1) Je ne conseille pas l'acide nitrique concentré, car son action est trop rapide et trop énergique; celle des acides plus dilués est, au contraire, trop lente et la coloration obtenue plus faible.

Je ne suis donc nullement de l'avis de M. Krasser, qui trouve que ce réactif manque de sensibilité.

M. Krasser fait observer qu'il y a d'autres substances qui ont le pouvoir de se colorer en jaune sous l'influence de cet agent; mais ces substances peuvent être éliminées par l'ébullition dans l'alcool et dans l'eau.

Les huiles, les membranes cellulosiques et l'amidon ne changent pas sensiblement sous son influence ; les membranes lignifiées jaunissent.

Comparée à celle des autres réactifs, sa sensibilité m'a paru être plus faible que celle du réactif de Millon et de l'éosine. Ce réactif convient fort bien pour la recherche des tubes criblés; sous l'influence de l'ammoniaque, le col se gonfle et les ponctuations deviennent alors plus faciles à apercevoir.

Réaction de Millon. — C'est de tous les réactifs d'albuminoïdes, celui qui est le mieux connu et le plus généralement employé. Son usage exige cependant beaucoup de prudence, et l'on ne peut admettre ses indications qu'après avoir fait bouilllir les coupes dans l'alcool tartrique, puis dans l'eau.

Ce réactif donne, en effet, des colorations avec tous les composés aromatiques qui ont un radical hydroxyle uni au noyau benzoïle (phénol, crésol, thymol, naphtol, résorcine, pyrogallol, guayacol, eugénol); de même que pour les composés résultant de la substitution de chaînes plus complexes (acide paraoxyphényl propionique). Beaucoup d'éthers aromatiques, comme l'anisol et le phénétol, l'acide oxyphénylacétique, l'acide oxyphénylglycholique, des aldéhydes comme l'aldéhyde salicylique et la vanilline, réagissent également vis-à-vis du Millon. Enfin, certains acides aromatiques, notamment le tannin et l'acide salicylique, se colorent, eux aussi, en rouge.

Signalons encore l'indol, qui se colore en rouge, et l'acide scatolcarbonique, qui prend une teinte brune.

Hoppe-Seyler indique la tyrosine, la leucine et l'hydantoïne, corps provenant de la fragmentation de la molécule albuminoïde, comme réagissant aussi; il en est de même pour la gomme arabique, l'acide hydroparacoumarique, certains alcaloïdes, les membranes lignifiées.

De plus, il est à noter que certains albuminoïdes ne donnent pas une coloration rouge avec le Millon, mais une teinte jaune brun : c'est le cas de la rhodospermine.

La manière d'opérer avec le Millon est des plus simples : des coupes très fines étant placées sur une lame, on dépose sur elles une goutte de réactif, puis, après avoir recouvert le tout d'une lamelle, on chauffe très doucement, jusqu'à apparition de la teinte rouge-brique, sans aller jusqu'à l'ébullition, car la coloration disparaîtrait. Cette teinte doit être rose ou rouge-brique et non brune.

Avec ce réactif, on localise admirablement les albuminoïdes du Ricin, du Pois, des graines de Blé, on constate le dépôt d'albuminoïdes au point végétatif des racines et l'on met nettement en évidence le contenu albuminoïde des tubes criblés.

Réaction de Fröhde. — Elle est moins conseillable que celle de Raspail, et cela pour les mêmes motifs; elle s'obtient plus difficilement, exige un acide absolument concentré et a le tort d'être commune à beaucoup de corps (alcool absolu, glycérine, tyrosine, mannite, gomme, amidon, phloroglucine, sulfate d'ammonium, etc.).

Réaction d'Adamkiewicz. — Elle se fait à l'aide d'un mélange d'acide sulfurique et d'acide acétique à parties égales, dont on dépose une goutte sur les coupes. On laisse agir à froid ou l'on chauffe légèrement, ce qui favorise la réaction et la rend plus nette; en tout cas, il apparaît une coloration rouge au contact des albuminoïdes.

J'ai obtenu de bons résultats avec ce mélange; il m'a permis de localiser les matières protéiques dans les tubes criblés du *Cucurbita pepo*. Il ne convient en tout cas que pour les éléments très riches en albuminoïdes; de plus, il altère les tissus et peut donner lieu à des erreurs, car il colore encore d'autres substances.

Cette réaction se produit avec la peptone et l'hémialbumose, mais non avec la gélatine ou la peptone de gélatine. J'ai observé que la légumine ne donnait pas la réaction bien nettement, aussi les coupes de Pois ne la présentaient-elles que d'une façon très faible.

La réaction d'Adamkiewicz est due à la présence des groupes indoliques et scatoliques, qui se trouvent toujours parmi les produits de la fragmentation des matières protéiques; l'acide scatolcarbonique se colore spécialement bien par ce réactif. Pour cette raison, elle serait, d'après Salkowski (1), très sûre. En tout cas, elle s'obtient encore bien après que les coupes ont subi une ébullition dans l'eau suivie d'une ébullition dans l'alcool.

Alloxane. — Suivant M. Krasser, le réactif le plus sensible des albuminoïdes est une solution aqueuse d'alloxane, dans laquelle on dépose pendant un certain temps les coupes; celles-ci prennent une coloration pourpre aux endroits où se trouvent des matières protéiques.

Cette réaction a jadis été critiquée très fortement par M. Klebs, qui prétendit que ce réactif ne fournissait aucune indication. M. Mangin (2) m'a dit avoir essayé ce réactif, mais n'en avoir rien obtenu; mes essais ont été infructueux et j'ai constaté qu'il ne pouvait être utilisé en microchimie. Ni des coupes, ni des fragments d'albumine n'ont présenté trace de coloration, pas plus au bout de quelques heures qu'après vingt-quatre heures.

Si l'on plaçait des fragments d'albumine sèche dans la susdite solution, ils restaient parfaitement incolores, même au bout de plusieurs jours; mais si on les retirait, puis qu'on les exposât à l'air, ils ne tardaient pas à devenir pourpres.

Lès solutions d'âlloxane se colorent en rouge en présence d'un très grand nombre de substances, tant organiques qu'inorganiques; telles sont : l'ammoniaque, le monophosphate de potasse, le bicarbonate de soude, le pyrophosphate de soude, les bicarbonates alcalins, plus un très grand nombre de composés organiques, notamment le glycocolle, les urées, la kératine, la leucine, la tyrosine, la coniine, la sylidine, la créatinine, l'acide aspartique et probablement aussi toutes les amines.

---

(1) SALKOWSKI, *Zeitschrift für physiol. Chemie,* XII. p. 221.

(2) M. Mangin expérimenta tout d'abord avec de l'alloxane d'origine allemande, puis avec de l'alloxane préparée par lui-même.

La réaction de l'alloxane n'est nullement caractéristique des albuminoïdes et pourrait même fort bien ne pas se produire avec eux.

Réaction de Reichl et Mikosch. — Jusqu'à présent, on n'a guère employé ce réactif en microchimie ; j'ai donc recherché jusqu'à quel point il peut servir dans ce genre d'investigations. Les résultats obtenus me permettent de le signaler comme pouvant être utilisé et pouvant même fournir d'excellentes indications.

J'opère de la façon suivante : les coupes sont d'abord abandonnées pendant une ou deux heures dans la solution alcoolique de benzaldéhyde, placées sur le porte-objet, séchées légèrement à l'aide de papier buvard, puis recouvertes d'une goutte ou deux d'acide sulfurique ferrugineux étendu. La lame est ensuite chauffée doucement, jusqu'à apparition d'une coloration bleue intense. Il est parfois nécessaire d'aller jusqu'à l'ébullition.

On peut ainsi localiser les substances protéiques du Ricin, celles du Pois (ici la teinte est pâle), celles du point végétatif des racines de Blé, ainsi que celles de l'assise à gluten de cette même plante ; le réactif est insuffisant pour les tubes criblés. La réaction de Reichl ne peut donc servir que pour les tissus renfermant de grandes quantités de substances protéiques.

Il est de plus à remarquer que toutes les matières albuminoïdes ne réagissent point de la même façon vis-à-vis de ce mélange ; ainsi, tandis que la légumine, la caséine, la fibrine du sang et l'albumine prennent une teinte bleue, le gluten se colore en mauve, la fibrine végétale donne lieu à la production d'un liquide jaune brun, les fragments de fibrine animale deviennent légèrement jaunes.

Ce réactif n'est pas exclusivement propre aux matières albuminoïdes : bien d'autres corps réagissent en effet en présence du mélange de Reichl et Mikosch ; tels sont : la nucléine, la papaïne, la coniférine, qui prennent une teinte bleue ; l'émulsine, la pepsine, la vératrine et le furfurol, qui deviennent d'un violet plus ou moins foncé. L'acide sulfurique ferrugineux seul agit déjà sur ces deux derniers.

L'amidon de Froment, le tannin, l'huile d'olive, l'urée, la méthylamine, l'asparagine, l'atropine, la brucine, la morphine, la caféine, la digitaline, l'amygdaline, la conicine, la papavérine, la picrotoxine, la vanilline, l'arbutine, l'acide oxalique, la gomme arabique et le sucre de canne, se colorent en jaune plus ou moins foncé, devenant parfois brun, ou bien se colorent directement en brun.

La salicine donne lieu à la formation d'un précipité rouge-brique, la narcéine produit un liquide d'un brun rose, la solanine donne lieu à la formation d'un liquide d'un beau rouge carmin, devenant ensuite violet. L'acide sulfurique ferrugineux seul donne cette même réaction avec la solanine.

Enfin M. Reichl indique la tyrosine, la leucine, la glycérine, les acides organiques, les hydrates de carbone, la pepsine, les peptones, la gélatine, le phénol, la résorcine, comme ne donnant pas la coloration bleue des albuminoïdes.

Réaction du biuret. — On sait que cette réaction peut être employée en microchimie : il suffisait donc ici de rechercher sa sensibilité comparativement aux autres.

Pour faire cette réaction, on prend des coupes assez grosses, on les laisse séjourner pendant une demi-heure dans la solution concentrée de sulfate de cuivre, puis on les passe à l'eau, afin d'enlever le sulfate de cuivre en excès ; elles peuvent y séjourner un certain temps, une heure environ, après quoi elles sont déposées dans une solution concentrée de potasse.

Le contact de la potasse fait apparaître presque immédiatement la coloration mauve plus ou moins intense et caractéristique des substances albuminoïdes ; la chaleur fonce un peu la teinte.

J'ai pu parfaitement déceler les albuminoïdes des tubes criblés au moyen de ce réactif. S'il n'est pas d'une excessive sensibilité, il me paraît, par contre, être l'un des agents permettant de caractériser, avec le plus de certitude, les matières albuminoïdes. Il n'y a, en effet, outre ces substances, que le biuret qui soit cité comme donnant une semblable réaction.

La peptone donne une coloration rose violacé.

Les substances albuminoïdes ne donnent toutefois pas (d'après Krasser) des réactions absolument identiques ; ainsi la caséine et la fibrine de Froment et de Seigle donnent un bleu violacé; la légumine de Pois un rose violacé ; la gliadine de Froment un violet foncé; la gliadine d'Avoine du violet ; l'albumine de Maïs un violet faible ; la légumine de Vesce un violet azuré.

Les préparations présentant cette coloration ne se conservent pas longtemps; elles ne souffrent ni l'eau, ni la glycérine, mais conservent la teinte pendant quelques heures dans la potasse.

La réaction s'obtient très nettement après ébullition des coupes dans l'eau, puis dans l'alcool.

Réaction de Guesda. — L'emploi microchimique de ce réactif se trouve indiqué dans un travail de M. Spencer Le Moore, sur l'existence de matières protéiques dans les membranes. Son emploi se fait soit à froid : dans ce cas, on laisse séjourner les coupes dans le réactif décrit précédemment pendant plusieurs heures; soit à chaud : dans ce cas, la réaction s'obtient instantanément.

Les albuminoïdes sont colorés en jaune ou en bleu sous son action, et cette dernière teinte devient orange si l'on ajoute de la potasse; je n'ai jamais obtenu que la coloration jaune ou jaune orangé.

Ce réactif m'a donné de bons résultats avec les plantes étudiées (Ricin, Courge, Pois, Blé, etc.) ; il localisait bien les matières protéiques. Son intensité équivaut, me semble-t-il, à peu près à celle de la réaction xanthoprotéique. Comme substance réagissant vis-à-vis du réactif de Guesda, M. Spencer Le Moore cite le tannin, qui donne un précipité ne changeant pas par la potasse, et le cachou, qui précipite en brun.

La coupe reste colorée pendant quelque temps si on la conserve dans la glycérine.

CONCLUSIONS.

1° Les albuminoïdes ne peuvent être localisés à l'aide d'un seul réactif, il en faut toujours plusieurs.

2° Avant de faire agir les réactifs, il convient de faire préalablement bouillir les coupes dans l'eau, puis dans l'alcool absolu, ou bien de les laisser séjourner dans de l'alcool tartrique.

3° Les réactifs qui me paraissent être le plus sensibles sont (par ordre de sensibilité) :

a) L'iodure de potassium iodé ou une solution aqueuse d'éosine;

b) Le réactif de Millon;

c) L'acide picrique, l'acide xanthoprotéique, l'acide phosphomolybdique et la réaction de Guesda;

d) La réaction de Piotrowski;

e) La réaction de Reichl et Mikosch.

Lorsque tous ces réactifs donnent des résultats, après que les coupes ont subi le traitement successif par l'eau et l'alcool bouillant, on peut hardiment conclure à la présence de substances protéiques.

4° Comme substance coagulante, l'alcool absolu est la meilleure.

5° Le réactif xanthoprotéique convient très bien pour la recherche des tubes criblés; il en est de même de l'éosine.

6° Les réactions d'albuminoïdes obtenues dans les tubes criblés ne sont pas toujours très intenses.

7° Il y a une grande quantité de substances protéiques, au point végétatif de la racine et dans les laticifères de diverses plantes, notamment dans ceux du *Carica papaya.*

BIBLIOGRAPHIE

1. Vines, Chemical composition of the aleuron grains. (*Roy. Soc. of London,* 1880, et *Journal of the roy. mic. Soc.*, vol. III, 1880, p. 667.)
2. F. Krasser in *Sitzungsber. der K. Akad. der Wiss. zu Wien,* 1886, t. XCIV, p. 118.
3. K. Klebs, Einige Bemerkungen zu der Arbeit von Krasser. (*Bot. Zeitung,* 1887, pp. 697 et 708.)
4. C. Wormster, Ueber Eiweiss- und Tyrosinreactionen. (Analyse in *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft,* 1889, p. 29.)
5. Roch, Nouveau réactif de l'albumine. (*Pharm. Centralblatt,* 17 septembre 1889, p. 549; résumé dans le *Journal de Médecine,* 1890, p. 272.)
6. Nickel, *Die Farbenreactionen der Kohlenstoffverbindungen,* Berlin 1890.
7. L. Errera, Sur la distinction microchimique des alcaloïdes et des matières protéiques. (*Ann. de la Soc. belge de microscopie,* t. XIII, 2e fasc., 1889.)
8. Zimmermann, *Die botanische Mikrotechnik.* Tubingen, 1892.
9. Spencer Le Moore, Das angebliche Vorkommen von Eiweiss in den Wandungen der vegetabilischen Zellen. (*Chemisches Centralblatt,* 1892, Bd II, nº 17), et The alleged existence of Protein in the cell walls and the microscopical detection of glycoside there (*Journal of the Linnean Society,* London, 1892.)
10. Mesnard, Sur les transformations que subissent les substances de réserve pendant la germination des graines. (*Bull. de la Soc. bot. de France,* 1893, fasc. 1, p. 35.)

Les autres auteurs qui se sont occupés de la microchimie des albuminoïdes sont indiqués dans les ouvrages cités.

PREMIÈRES RECHERCHES
SUR LA
LOCALISATION ET LA SIGNIFICATION DES ALCALOÏDES
DANS LES PLANTES

PAR

L. ERRERA
Professeur à l'Université de Bruxelles,

Dr MAISTRIAU
Médecin militaire à Gand,

et G. CLAUTRIAU
Pharmacien à Marchienne-au-Pont (¹).

AVEC UNE PLANCHE EN COULEUR

> « Il faut tâcher de coordonner les observations de façon qu'on puisse en tirer des conclusions. »
>
> DE SÉNARMONT.

SOMMAIRE

CHAPITRE PREMIER. — INTRODUCTION : But de la microchimie; historique des recherches de microchimie relatives aux alcaloïdes; réactifs généraux 149
CHAPITRE II. — LOCALISATION DES ALCALOÏDES DANS LES PLANTES. . 155
§ 1. *Colchicum officinale* (²) 155
§ 2. *Nicotiana macrophylla* 161

(¹) Ce travail a paru dans le *Journal* publié par la Société royale des sciences médicales et naturelles de Bruxelles, année 1887. — Il avait été couronné au concours de 1885-1886 de la même Société. Une note préliminaire avait paru dans le *Bull. de l'Acad. roy. de Belgique*, 3e série, t. XIII, n° 3, 1887. Léo Errera en a publié un résumé dans *Biologischer Centralblatt*, p. 201, 1er juin 1887.

(²) L'étude du *Colchicum* et du *Nicotiana* a été faite par M. le Dr Maistriau; celle de l'*Aconitum* par M. Clautriau; le reste du travail est l'œuvre de M. L. Errera.

§ 3. *Aconitum Napellus* 163
§ 4. *Narcissus* 169
§ 5. *Canna* 175
§ 6. *Veratrum album* 176
§ 7. *Solanum* 176
§ 8. *Strychnos* 176
CHAPITRE III. — Résultats généraux 178
§ 1. Topographie des alcaloïdes 178
§ 2. Physiologie et biologie des alcaloïdes 179

CHAPITRE PREMIER.

INTRODUCTION. — RÉACTIFS GÉNÉRAUX.

La recherche microchimique des alcaloïdes, malgré son importance pour la science et pour la pratique, a été jusqu'ici très négligée. Behrens le faisait remarquer avec raison, il y a quelques années, dans son traité de microscopie (¹) : « Des classes entières de substances, comme, par exemple, les bases végétales, si importantes au point de vue chimique et technique, sont presque complètement inconnues au point de vue microscopique ». Et Pfeffer (²) était obligé de dresser ce procès-verbal de carence : « Quant à la signification des alcaloïdes dans les échanges nutritifs des plantes, on n'en peut absolument rien dire ».

En mettant au concours l'étude de la localisation microchimique des alcaloïdes, la Société des sciences médicales et naturelles a donc eu une idée très heureuse et qui vient au bon moment.

L'abandon dans lequel cette étude a été laissée se justifie d'autant moins que les alcaloïdes sont doués de réactions caractéristiques qu'il est facile, pour la plupart d'entre eux, de reproduire sous le microscope, comme on le verra dans la suite. Aussi ce travail a-t-il avant tout pour but de montrer *la possibilité de localiser avec précision le siège des alcaloïdes dans les plantes*. Nous étudierons cette localisation dans quelques cas et nous indiquerons les conséquences physiologiques qui nous paraissent s'en déduire. Les doutes et les tâtonnements inévitables du début nous ont obligés a de très nombreuses vérifications et nous ont beaucoup retardés ;

(¹) *Hilfsbuch*, 1883, p. 367.

(²) *Pflanzenphysiologie*, I, 1881, p. 308.

mais nous avons préféré obtenir des résultats certains pour un petit nombre d'espèces que d'en examiner superficiellement un grand nombre. Personne ne sait donc mieux que nous combien ce travail est imparfait et incomplet; mais nous nous estimerons heureux si nous réussissons par ces recherches à ouvrir à l'investigation microchimique un champ sinon nouveau, du moins à peine exploré, et si nous parvenons à en faire entrevoir la richesse.

Il importe de s'entendre sur la façon d'envisager les recherches microchimiques. Beaucoup d'auteurs emploient ce terme lorsqu'ils se bornent à reconnaître à l'aide du microscope la nature d'un précipité obtenu en petite quantité. C'est ce qu'ont fait avec succès pour les alcaloïdes Taylor, Guy, puis, en 1865, Helwig, dans son *Mikroskop in der Toxikologie,* et plus tard Dragendorff, dans son *Ermittelung der Gifte* (trad. française: *Manuel de toxicologie,* 1873). Selon nous, une semblable désignation n'est pas justifiée. Que l'on regarde un précipité à l'œil nu, à la loupe ou au microscope, le résultat est toujours du même ordre. Mais lorsque nous faisons la coupe d'un organe et qu'au moyen de l'iode nous déterminons avec précision quelles cellules renferment de l'amidon, quelles autres des réserves protéiques ou des alcaloïdes, alors nous abordons des questions que les méthodes ordinaires de la chimie ne permettraient pas de résoudre, parce que la chimie s'attaque aux substances et non pas aux cellules. *Le caractère essentiel de la microchimie consiste donc, pour nous, non dans la recherche de petites quantités, mais dans leur localisation.*

Les auteurs qui se sont occupés jusqu'ici des alcaloïdes, à ce point de vue, ne sont pas nombreux. Par rang de date, nous trouvons d'abord, en 1808, une dissertation latine de Kielmeyer et Koestlin (¹). A cette époque, on avait à peine commencé l'étude chimique de l'opium et l'existence de principes végétaux alcalins semblait encore inadmissible. Aussi ce mémoire n'a-t-il qu'un intérêt historique; on y remarque seulement l'indication des organes qui sont doués, dans les diverses plantes, de la « vertu narcotique » et

---

(¹) *De materiis narcoticis regni vegetabilis earumque ratione botanica.* Tubingue, 1808.

quelques considérations sur les familles auxquelles ces plantes appartiennent.

En fait d'ouvrages généraux, nous ne rencontrons plus guère qu'une thèse publiée en 1876 par Joannes Chatin : « Du siége des substances actives dans les plantes médicinales ». Malheureusement le titre se rapporte plus à notre sujet que le contenu. Pour les alcaloïdes, l'auteur n'a fait aucune observation personnelle; il se borne à énumérer les organes d'où ces corps ont été extraits; puis il rappelle que Howard (1) a trouvé des cristaux de quinine et de cinchonine dans les couches les plus externes du parenchyme cortical des *Cinchoma,* et que de Vrij a constaté une forte proportion d'alcaloïdes dans les racines de ces plantes.

Les travaux dont il nous reste à parler touchent de plus près à notre sujet. Mais il s'agit là d'observations isolées, qui sont demeurées jusqu'à présent sans lien et sans portée générale.

Le botaniste russe Borscow (2) est, croyons-nous, le premier qui ait véritablement employé la méthode histologique et microchimique pour l'étude des alcaloïdes. Il ne s'est occupé que de la *vératrine.* Après lui et dans ces toutes dernières années, nous trouvons quelques indications d'Essmanoffsky (3) sur un alcaloïde problématique des *Canna;* de Schaarschmidt (4) sur la *solanine* — qui est, du reste, un glycoside plutôt qu'un alcaloïde; — de Rosoll (5) sur la *strychnine;* enfin de Lindt (6) sur la *strychnine* et la *brucine.*

---

(1) *The quinology of the east indian plantation,* London, 1869, et autres ouvrages du même auteur.

BÖDEKER (*Ann. Chem. und. Pharm.*, LXVI, p. 384) (cité par Lindt) avait déjà obtenu en 1849 des cristaux de nitrate de berbérine dans les membranes cellulaires de la racine de *Berberis* et de *Cocculus palmatus.*

(2) *Beitr. z. Histochemie d. Pflanzen.* (BOTAN. ZEITUNG, 1874, p. 38.)

(3) *Untersuch. der Saftgänge u. der in ihnen vorkommenden Niederschläge bei Canna* (MITTHEIL. D. WARSCHAUER UNIVERSITÄT, 1879). (Analyse dans JUST, *Bot. Jahresb.*, VII, 1879, I, p. 10.)

(4) *Ueber d. mikrochem. Reaction des Solanin.* (ZEITSCHR. F. WISS. MIKROSK., I, 1884, pp. 61 et 62.)

(5) *Beitr. z. Histochemie d. Pflanze.* (SITZGSB. AK. WISS. WIEN, 1884, I, p. 137.)

(6) *Ueber d. mikrochem. Nachweis von Brucin u. Strychnin.* (ZEITSCHR. F. WISS. MIKROSK., I, 1884, p. 237.)

Nous pourrons le mieux résumer et apprécier ces travaux en les examinant à la suite de nos propres observations. L'article de Lindt renferme aussi une remarque relative à la *colchicine,* qui sera discutée plus loin.

La marche à suivre pour l'étude microchimique des alcaloïdes est celle des recherches microchimiques en général. Les coupes ne doivent pas être par trop fines afin de ne pas entamer les cellules dont on veut étudier le contenu. On les dépose soit directement dans une goutte du réactif, soit dans une goutte d'eau à laquelle le réactif est ajouté ensuite. Ordinairement la première méthode donne des réactions plus marquées; mais la seconde doit être employée lorsqu'il est utile de suivre sous le microscope la marche de la réaction (1).

Parmi les réactifs généraux des alcaloïdes, le meilleur et le plus sensible que l'on puisse appliquer à la recherche microchimique est la solution aqueuse d'*iodure de potassium iodé* (nous l'indiquerons dans la suite par l'abréviation IKI). L'iode nous apparaît ainsi chaque jour davantage comme le réactif par excellence de la microchimie végétale. Il a le mérite de tuer instantanément le protoplasme, de sorte que la réaction ne se fait pas attendre; et il donne avec les alcaloïdes des précipités rouge brun ou kermès faciles à voir dans les tissus et solubles dans l'hyposulfite de soude. L'aspect de ces précipités est très caractéristique lorsque l'on a appris à les reconnaître. Nous n'en voulons pour preuve que la découverte d'un alcaloïde dont nous ne soupçonnions pas l'existence chez les *Narcissus*. Comme on le verra plus loin, c'est le précipité produit par l'iode qui nous l'a révélé. Cela ne veut pas dire qu'un semblable précipité suffise pour conclure avec certitude à la présence d'un alcaloïde, car la précipitation par l'iode n'est pas, comme l'indiquent à tort quelques ouvrages, un caractère exclusif des alcaloïdes : certaines amines [la diméthylamine, par exemple (¹)], certains glycosides [par exemple la vincétoxine (²)], etc., donnent aussi cette réaction. Mais il est certain que le précipité rouge brun par l'iode est un indice précieux et que les plantes qui le présentent renferment presque toujours un alcaloïde.

---

(1) Dans nos recherches, nous nous sommes surtout occupés des plantes fraîches. La commission qui a examiné ce travail a, par l'organe de son honorable rapporteur, M. le professeur Herlant, critiqué cette préférence (*Journal de médecine, chirurgie et pharmacol.,* 20 janvier 1887, p. 36) : « Il est fâcheux aussi qu'aucune recherche n'ait été faite sur les plantes sèches, dans lesquelles la localisation serait peut-être plus facile à étudier que dans les organes vivants ». C'est cependant, pensons-nous, un fait bien établi en physiologie végétale, qu'après la mort du protoplasme, les substances renfermées dans les cellules n'y sont plus retenues et peuvent, par conséquent, se répandre par diffusion dans les régions environnantes. Une localisation microchimique précise est donc beaucoup plus difficile ou même impossible, lorsque l'on s'adresse aux tissus morts et desséchés. Les expériences comparatives que nous avons faites sur des bulbes frais et des bulbes secs de colchique, des tiges fraîches et des tiges sèches d'aconit, lèveraient à cet égard les derniers doutes, s'il pouvait en subsister.

[Note ajoutée lors de l'impression.]

Dans quelques cas, en présence de protoplasme très dense ou de beaucoup d'huile, les alcaloïdes donnent seulement une *coloration* rouge brun par le réactif iodé. La réaction rappelle alors celle du glycogène (³); mais il est facile de la distinguer en chauffant légèrement la préparation : le glycogène se décolore à chaud et reprend sa couleur brune par le refroidissement, ce qui n'a pas lieu pour les alcaloïdes.

Nous avons aussi employé avec succès, sous le microscope, la plupart des autres réactifs généraux des alcaloïdes : *acide phosphomolybdique*, *iodure double de mercure et de potassium*, *acide picrique*, *tannin*, *bichlorure de mercure*, *tétrachlorure de platine*, *réactif de Fröhde* (molybdate de soude, 1 gramme; acide sulfurique concentré, 100 grammes), etc. Mais ordinairement les colorations et les précipités produits ne sont ni aussi foncés, ni aussi nets qu'avec

---

(¹) RASCHIG, *Ber. d. deutsch. chem. Ges.*, 1885, n° 16, Ref. p. 613.

(²) TANRET, *Comptes rendus*, t. C, p. 277. Pour la vincétoxine, le précipité ne se produit qu'en présence d'un acide fort. Voyez aussi VULPIUS, *Ber. d. deutsch. chem. Ges.*, 1885, n° 16, Ref. p. 639.

(³) ERRERA, *Épiplasme des Ascomycètes*, Bruxelles, 1882; *Glycogène chez les Basidiomycètes* (MÉM. DE L'ACAD. ROY. DE BELGIQUE, 1885); et d'autres publications du même auteur.

l'iodure de potassium iodé. En outre, une difficulté se présente assez souvent : c'est que la couche protoplasmique qui entoure la vacuole centrale de la cellule reste longtemps vivante et refuse de se laisser traverser par le réactif (1); il faut alors, à l'exemple de de Vries, chauffer la préparation pour tuer le protoplasme.

Parmi les réactifs spéciaux de certains alcaloïdes, nous ne citerons ici que l'acide sulfurique concentré : il donne avec plusieurs d'entre eux des colorations très tranchées et nous a rendu service dans bien des cas.

Afin d'arriver à des résultats concluants, nous avons toujours fait usage de plusieurs réactifs qui se contrôlent mutuellement. Il faut varier le choix de ces réactifs suivant l'alcaloïde que l'on recherche. Disons seulement, comme indication générale, que l'on réussit souvent avec l'IKI et un second réactif formé par l'acide sulfurique (seul ou associé au sucre, au bichromate de potassium, à l'acide nitrique, etc.).

Les sucs des plantes étant généralement acides, les alcaloïdes doivent se trouver dans les tissus à l'état de sels et non à l'état libre. C'est là un fait essentiel qu'il ne faut jamais perdre de vue dans les réactions microchimiques. Il importe aussi de se rappeler, pour comparer la couleur des précipités, qu'on les observe en général par réflexion dans un tube à réactifs et par transparence dans une préparation microscopique. Il suffit d'ailleurs d'empêcher, avec la main ou autrement, la lumière réfléchie par le miroir d'arriver à la préparation, pour se rendre compte de la couleur que le précipité aurait s'il était vu par réflexion.

---

(1) Voyez à ce sujet le beau mémoire de de Vries, *Plasmolytische Studien über die Wand der Vacuolen.* (Jahrb. f. wiss. Bot., XVI, 1885, p. 575.)

CHAPITRE II.

LA LOCALISATION DES ALCALOÏDES DANS LES PLANTES.

§ 1. — *Colchicum autumnale.*

Nous avons commencé nos recherches par le colchique. Afin de procéder d'une manière plus sûre, nous avons répété, *in vitro*, les réactions caractéristiques de la colchicine ; et, comme les indications des différents auteurs à ce sujet ne sont pas très concordantes, il sera bon de noter ici les résultats que nous avons obtenus. Notre colchicine (¹) n'a pas été examinée par nous quant à sa pureté; mais c'est là un point secondaire dans le cas actuel, puisque les réactions microchimiques doivent s'observer dans les cellules, en présence d'une foule de matières étrangères.

Notre colchicine forme une masse jaune-soufre, soluble dans l'eau; la solution est jaune verdâtre.

1. L'*addition d'acide sulfurique* colore la solution en jaune plus intense.

2. L'*addition à une goutte d'acide nitrique* ou d'un peu de *nitrate de potassium* à une solution de colchicine dans l'acide sulfurique concentré donne une coloration brun violet, qui revient rapidement à un jaune plus pâle que le jaune primitif de la solution. — Dans un ordre inverse (d'abord AzO^3H, puis SO^4H^2), la réaction est la même.

Dans une solution sulfurique diluée, l'addition de l'acide nitrique ne produit pas de coloration brune.

3. Si l'on ajoute de la *potasse caustique* à une solution sulfurique et nitrique, revenue au jaune pâle, il y a une coloration rouge, lorsque l'alcalinité est bien prononcée.

(¹) Provenant de la fabrique de Schuchardt, à Görlitz (Silésie).

4. Le *perchlorure de fer* colore la solution aqueuse en brun orangé, sans précipité.

5. L'*acide chlorhydrique* colore en jaune.

6. Le *tannin :* précipité blanc, laiteux.

7. L'*acide phosphomolybdique :* précipité jaunâtre.

8. L'*iodure double de mercure et de potassium :* seul, il ne donne rien; si l'on ajoute de l'acide chlorhydrique, on obtient un précipité jaunâtre, granuleux au microscope.

9. L'*acide picrique :* ne précipite pas une solution neutre ou acide (¹).

10. L'*iodure de potassium iodé* ne donne rien dans la solution neutre. Dans la solution acidulée (par HCl ou SO^4H^2), précipité brun orangé.

Tubercule. — *Tubercule de l'année* (fig. 1, *b'*). Son tissu est acide; la colchicine s'y trouve donc vraisemblablement à l'état de sel.

Si l'on fait agir sous le microscope, sur une coupe transversale, de l'*acide sulfurique dilué* (1 partie SO^4H^2, 2-3 parties H^2O), on observe une belle coloration jaune, dans les cellules de l'*épiderme* (fig. 2, *ép.*) et dans celles qui *entourent immédiatement les faisceaux fibro-vasculaires* (fig. 2, *cf.*). Les autres cellules du bulbe restent incolores. Sur une coupe très mince, quelques cellules seulement sont colorées au pourtour des faisceaux; sur une coupe un peu épaisse, on observe autour de chaque faisceau un anneau complet de cellules colorées. Sur une coupe longitudinale, chaque faisceau apparaît bordé de chaque côté par une rangée de cellules colorées.

Ces cellules sont allongées parallèlement au faisceau; elles sont plus longues et plus étroites que les cellules du parenchyme qui les

---

(¹) En cela, notre colchicine s'écarte des indications de certains auteurs (Husemann et Hilger, *Pflanzenstoffe,* p. 373), d'après qui les solutions acides seraient précipitées par l'acide picrique. D'ailleurs Gilkinet (*Traité de chimie pharmaceutique,* 1885, p. 993) ne cite point l'acide picrique parmi les réactifs sensibles de la colchicine.

entourent. Elles forment une couche unique et continue au pourtour du faisceau et n'appartiennent ni au bois ni au liber (¹). Elles ne sont pas lignifiées (essai par le chlorhydrate d'aniline). Elles renferment un noyau colorable par le carmin de Grenacher. C'est bien le contenu de ces cellules, et non leur membrane, qui se colore par l'acide sulfurique : des cellules déchirées, qui ont perdu leur contenu, ne se colorent plus. Ces cellules circumfasciculaires, comme on peut les nommer, ne renferment pas d'amidon, tandis que les éléments parenchymateux voisins en contiennent beaucoup. Elles ne correspondent donc pas à la « gaine amylifère » des faisceaux (« Stärkescheide » de Sachs); elles occupent plutôt la situation de la « gaine conductrice » de Schimper (²).

Vues à la loupe, ces cellules circumfasciculaires présentent déjà, sans réactif, une légère nuance jaune verdâtre, qui rappelle la coloration de la solution aqueuse de colchicine et permet de les distinguer des tissus voisins.

Tubercule de l'année précédente (fig. 1, *b*). Il accompagne, comme on sait, le bulbe de l'année et lui sert de réservoir nutritif. Son épiderme ne donne plus guère de coloration par l'acide sulfurique ; autour des faisceaux, quelques cellules, çà et là, se colorent encore faiblement. — Dans un vieux bulbe épuisé qui ne renferme plus d'amidon, on n'obtient plus la coloration, ou seulement des traces. Les bulbes secs, tels qu'on les trouve dans le commerce, ne donnent aussi qu'une réaction faible et diffuse.

Le *point végétatif du bulbe de l'année suivante,* situé vers la base du bulbe de l'année, donne très fortement la réaction jaune.

Expériences de contrôle. — La coloration jaune par l'acide sulfurique est bien due à la colchicine ; c'est ce qui ressort des expériences suivantes :

L'*acide sulfurique concentré* + *une goutte d'acide nitrique* (ou : +

(¹) Dans tout ce travail, nous employons les mots *bois* et *liber* comme synonymes de *région vasculaire* et *région criblée* du faisceau fibro-vasculaire.

(²) *Bot. Zeitung,* 1885, nº 48.

quelques cristaux de *nitrate de potassium*) [1] donne une coloration violette, puis brune, des mêmes cellules que tantôt (épiderme et gaine circumfasciculaire). Au bout de quelques minutes, la coloration est revenue au jaune. Si l'on ajoute alors de la *potasse*, il ne se produit, en général, aucun changement, ce qui tient probablement à ce que la colchicine a eu le temps de se perdre par diffusion dans toute la préparation sous l'influence des acides forts employés. Mais si l'on jette la section dans un verre de montre rempli de potasse, aussitôt que la teinte violet brun commence à pâlir, on voit souvent cette teinte passer au rouge vif. Une couleur semblable peut apparaître aussi en des endroits où il n'y a pas d'alcaloïde, ce qui n'a rien d'étonnant puisque les tannins donnent avec la potasse des produits d'oxydation rouges [2] et que d'autres substances (acide chrysophanique, etc.) se conduisent d'une manière analogue.

L'*iodure de potassium iodé* colore d'abord les grains d'amidon. Quand tout l'amidon est coloré, on voit se produire, toujours dans les mêmes cellules à colchicine, une coloration jaune, qui passe à l'orangé, puis au rouge-acajou, sans qu'il se forme de précipité. Après quelques minutes (trois à quatre minutes), les cellules commencent à pâlir; elles continuent à pâlir jusqu'à ce qu'elles soient devenues jaune pâle. Encore quelques minutes, et l'on observe dans ces cellules un précipité brun-kermès, granuleux. Le précipité ne disparaît pas par la chaleur; mais, à la longue, il semble qu'il disparaisse, même à froid.

La chaleur hâte la disparition de la coloration rouge-acajou et la formation subséquente du précipité; ces phénomènes, qu'il serait prématuré de vouloir dès à présent expliquer dans leurs détails, se produisent presque instantanément quand on chauffe les préparations au-dessus d'une flamme ou qu'on emploie un grand excès d'iode. La coloration rouge-acajou, une fois qu'elle a disparu, ne réapparaît pas par le refroidissement, ce qui distingue nettement cette réaction de celle que produit l'iode sur le glycogène.

---

[1] Beaucoup d'essais m'ont fait voir que la meilleure manière d'obtenir cette réaction est de mélanger deux gouttes d'acide sulfurique concentré avec une goutte d'acide nitrique pur, de déposer dans ce mélange un fragment pas trop mince du tissu à étudier, de couvrir d'une lamelle et d'observer tout de suite. La coloration violacée est surtout belle sur les bords du tissu. Ou bien encore : mettre la coupe dans une grosse goutte d'acide sulfurique pur, ajouter une trace d'acide nitrique, couvrir d'une lamelle et observer. [Note ajoutée par L. Errera.]

[2] Sachs, *Sitzgsb. Akad. Wien*, 1859, p. 27.

L'*acide chlorhydrique* colore en jaune les cellules à colchicine.

L'*iodure de potassium iodé employé après l'action de HCl ou* SO^4H^2 donne immédiatement un précipité granuleux, brun, abondant.

L'*iodure double de mercure et de potassium*, employé seul, donne une coloration jaunâtre, très peu marquée, des cellules à colchicine. Si l'on a préalablement acidulé la préparation par l'acide chlorhydrique, les cellules que cet acide avait colorées en jaune en les laissant transparentes deviennent opaques, et il se répand dans la préparation un précipité jaune de chrome, granuleux.

L'*acide phosphomolybdique* donne un précipité jaunâtre dans les cellules à colchicine. Cette réaction est peu nette.

Le *tannin* ne donne pas de résultats bien nets.

L'*acide osmique :* coloration gris noirâtre dans la plupart des cellules du parenchyme du bulbe; les cellules à colchicine restent incolores.

Le *perchlorure de fer :* coloration fauve pâle des cellules à colchicine, après quelques minutes.

L'*acide picrique* ne donne rien.

L'ensemble de ces réactions démontre clairement que c'est bien la colchicine que nos cellules renferment. D'une part, en effet, nous savons qu'il y a dans le tubercule une substance qui se colore en jaune par l'acide sulfurique, en violet brunâtre par les acides sulfurique et nitrique réunis, qui précipite en brun par l'iode, en jaunâtre par l'iodure double, etc.; d'autre part, nous trouvons certaines cellules, bien déterminées, où toutes ces mêmes réactions s'obtiennent sous le microscope : il est impossible, dès lors, d'échapper à la conclusion que l'alcaloïde se localise dans ces cellules.

Si l'on fait agir les réactifs sur une coupe mince, après qu'elle a macéré une ou deux heures dans l'eau, les réactions, comme on devait s'y attendre, ne se produisent plus, la colchicine ayant diffusé dans le liquide ambiant.

Récemment Lindt (*loc. cit.*, p. 238) a observé dans le liber des écailles du bulbe de *Colchicum* des gouttelettes huileuses qui se colorent en jaune par l'acide sulfurique, et que l'addition d'acide nitrique fait passer au violet, puis au brun, puis de nouveau au jaune. Il n'y a donc pas de raison de douter que ces gouttelettes huileuses ne renferment de la colchicine. Cependant Lindt repousse cette conclusion : « Cette huile, dit-il, ne paraît pas renfermer de colchicine, car la réaction n'a pas lieu si les coupes, préalablement desséchées, sont privées de leur huile par l'éther de pétrole ». Il semble avoir oublié ce fait, pourtant élémentaire, que « les alcaloïdes peuvent être extraits, en même temps que la graisse, par l'éther de pétrole, lors même qu'isolément ils sont insolubles dans ce dernier corps (1) ».

Parties aériennes. — La *tige folifère* est très riche en colchicine : elle y existe dans l'épiderme et surtout au pourtour des faisceaux, où elle occupe de longues cellules, sortes de vaisseaux utriculeux, au sens de Hanstein. (Cf. *infra : Narcissus.*)

L'épiderme des *feuilles* en renferme également en assez grande quantité.

Fruit : l'épiderme de la *capsule* en contient, ainsi que l'endosperme des *graines* (2). A en juger d'après l'intensité de la coloration produite par les réactifs, celles-ci renferment une grande quantité d'alcaloïde.

---

(1) Dragendorff, *Die qualit. u. quantit. Analyse von Pflanzen und Pflanzentheilen,* 1882, p. ix.

(2) De même l'épiderme et la couche interne du tégument de l'ovule. [Note ajoutée par L. Errera.]

§ 2. — *Nicotiana macrophylla.*

Voici d'abord, pour mémoire, les réactions que nous avons observées sur de la nicotine (de Schuchardt) :

Liquide légèrement jaunâtre, à réaction alcaline.

1. *Iodure de potassium iodé :* en petite quantité, il produit un précipité jaune un peu brunâtre, qui disparaît rapidement. En excès, précipité brun jaunâtre qui pâlit, puis disparaît également. La solution reste opalescente.
2. *Iodure double de mercure et de potassium :* précipité blanc, très légèrement jaunâtre, abondant.
3. *Tétrachlorure de platine :* précipité blanc jaunâtre, soluble à chaud (vers 70°).
4. *Tannin :* précipité blanc, très légèrement jaunâtre, soluble dans l'acide chlorhydrique.
5. *Eau de chlore :* rien.
6. *Acide sulfurique :* coloration rouge vineux, très pâle.
7. *Acide chlorhydrique :* coloration rose, qui passe au rose violet vif par AzO^3H.
8. *Acide picrique :* précipité jaune, très fugitif.
9. *Acide phosphomolybdique :* précipité abondant, d'abord jaune, puis vert jaunâtre.
10. *Perchlorure de fer :* dans la solution de la base : précipité jaune rougeâtre; dans la solution acidulée par l'acide acétique : pas de précipité.
11. *Bichlorure de mercure :* précipité blanc, abondant, soluble à chaud dans un excès de chlorure d'ammonium.
12. *Alloxane :* rien d'abord; à une température élevée : coloration rouge pourpre.

Les réactifs qui nous ont donné les meilleurs résultats pour caractériser la nicotine dans les tissus végétaux sont : l'acide phosphomolybdique, le bichlorure de mercure, l'iodure double de mercure et de potassium, le tétrachlorure de platine et, surtout, l'iode dans l'iodure de potassium. Tous ces réactifs agissent exactement *sur les mêmes cellules :* ces cellules sont donc bien le siège de la nicotine.

Nous extrayons de nos observations les résultats essentiels :

1. *Iodure double de mercure et de potassium :* il produit dans les cellules à nicotine un précipité blanc jaunâtre.
2. *Acide phosphomolybdique :* précipité jaunâtre abondant.
3. *Bichlorure de mercure :* précipité blanc. Nous n'avons pas réussi à dissoudre ce précipité, à chaud, dans du chlorure d'ammonium. Cela tient peut-être à ce que ce sublimé corrosif coagule en même temps les albuminoïdes et y emprisonne, par conséquent, le précipité.
4. *Tétrachlorure de platine :* précipité jaunâtre. Il ne nous a pas été possible de le dissoudre par la chaleur, probablement aussi parce que l'on coagule les albuminoïdes en chauffant la préparation.
5. *Iodure de potassium iodé :* les cellules à nicotine prennent une belle coloration kermès, et il s'y forme un précipité rouge brunâtre, abondant. La coloration et le précipité pâlissent assez rapidement, surtout si l'on chauffe, et ne reprennent plus dans la suite leur teinte primitive; en même temps le précipité semble augmenter.

Voyons maintenant comment sont distribuées dans la plante les cellules à nicotine.

Racine (2 millimètres de diamètre). — La nicotine existe assez abondamment dans les cellules périphériques (faux épiderme) et les quatre à cinq couches les plus externes du parenchyme cortical.

Tige jeune. — La nicotine est extrêmement abondante dans l'épiderme et les poils (surtout les cellules de la base des poils); il paraît (¹) y en avoir aussi dans toutes les cellules du parenchyme, cortical et médullaire.

(¹) Nous disons : « il paraît » parce qu'il n'est pas impossible qu'en faisant les coupes on répande un peu de l'alcaloïde sur des parties où il n'existe pas en réalité.

Les faisceaux qui se rendent de la tige vers les feuilles sont accompagnés sur leur face interne (supérieure, par rapport à la feuille) de deux à trois couches de cellules très riches en nicotine.

Pétiole. — Beaucoup de nicotine dans l'épiderme; une quantité modérée dans toutes les cellules du parenchyme; beaucoup dans celles qui longent la face supérieure (par rapport à la feuille) des faisceaux.

Limbe foliaire. — L'alcaloïde est peu abondant dans les cellules épidermiques, excepté dans celles qui servent de support aux poils et dans les poils eux-mêmes, où il est très abondant. Il paraît être assez abondant dans le parenchyme assimilateur; mais la présence de la chlorophylle empêche de bien juger de l'intensité des colorations et des précipités. Autour de la *nervure médiane*, l'alcaloïde semble exister dans tout le parenchyme, mais il est surtout abondant, encore une fois, dans les cellules immédiatement en contact avec la face supérieure des faisceaux.

Rameau fructifère. — La réaction se manifeste dans les deux à trois couches de cellules les plus externes de la moelle, c'est-à-dire, de nouveau, le long de la face interne des faisceaux fibro-vasculaires; les cellules centrales de la moelle se colorent peu ou point.

Point végétatif. — La nicotine paraît excessivement abondante au point végétatif, dans les jeunes parties de l'axe et dans les feuilles les plus jeunes.

§ 3. — *Aconitum Napellus.*

On a pendant longtemps décrit l'aconitine, principe actif de l'*Aconitum Napellus*, comme étant une poudre blanche *amorphe* très légère, renfermant de l'eau d'hydratation qu'elle perd par la chaleur en se transformant en une masse résineuse. Cette aconitine est inodore et possède une amertume et une âcreté persistantes. Elle est peu soluble dans l'eau, soluble dans les acides avec formation de sels incristallisables.

Groves, puis Duquesnel ont étudié cette aconitine amorphe. Ils ont démontré que ce produit n'était pas pur et que l'on pouvait en extraire un alcaloïde *cristallisé* : l'aconitine cristallisée, peu soluble dans l'eau. Elle se dissout parfaitement dans l'alcool, l'éther, la benzine, le chloroforme, ainsi que dans les acides, en formant avec eux des sels définis, cristallisés.

Les réactions caractéristiques de ces deux aconitines sont sensiblement les mêmes.

L'iodure de potassium iodé forme un précipité brun-kermès. Le tannin, l'iodure double de mercure et de potassium, le sulfocyanure de potassium donnent des précipités blancs.

L'acide phosphomolybdique précipite en blanc, le précipité devenant bleu à la lumière.

Le perchlorure de fer et l'acide picrique donnent des précipités jaunes.

Le chlorure d'or précipite en jaune.

L'acide sulfurique concentré colore en jaune, puis en rouge.

L'acide sulfurique additionné d'une solution de saccharose produit une coloration rouge-carmin.

L'acide phosphorique très concentré à 80° centigrades produit une coloration violacée.

D'après des recherches plus récentes (¹), il paraîtrait que l'aconitine cristallisée de Duquesnel ne serait pas la véritable aconitine, et que cette dernière posséderait des réactions tout à fait différentes des aconitines cristallisée et amorphe.

Le véritable alcaloïde de l'*Aconitum Napellus* serait une base cristallisée ne donnant aucune coloration avec les acides. Tel serait le principe actif de la plante, mais cela n'est pas encore définitivement établi. En tous cas, la substance qui donne les réactions colorées indiquées ci-dessus semble accompagner partout l'aconitine véritable, et à ce titre, ces réactions nous renseignent au moins indirectement et d'une manière approchée sur la localisation de l'alcaloïde proprement dit. Aussi, dans tout ce qui va suivre,

---

(¹) Mandelin, *Archiv für Pharm.*, III, 23; Jürgens, *Pharm. Zeitschr. Russlands*, t. XXIV.

ne s'agira-t-il jamais que de l'aconitine cristallisée de Duquesnel, par suite des réactifs employés pour la caractériser.

Pour reconnaître la présence de l'aconitine dans la plante même par voie microchimique, on ne peut employer tous les réactifs de l'alcaloïde, plusieurs de ceux-ci ne produisant dans les tissus aucun changement nettement appréciable.

Le meilleur réactif général des alcaloïdes est l'*iodure de potassium iodé*, mais son précipité ne suffit pas à caractériser un alcaloïde en particulier. De plus, l'iode produit aussi avec les matières protéiques des tissus des colorations jaunes plus ou moins foncées, mais assez différentes de la couleur brun-kermès.

Une réaction très nette s'obtient avec l'*acide sulfurique*. Dans les tissus mêmes, la coloration se produit parfaitement au bout de quelque temps; mais elle est plus rapide et plus intense si l'on humecte auparavant la préparation avec une solution de *saccharose*. Cette coloration est plus forte que celle que le même réactif produit sur les substances albuminoïdes (réaction de Raspail). La rapidité de la réaction varie avec la concentration de l'acide; mais pour arriver à un bon résultat, il est préférable d'additionner l'acide de $^1/_3$ à $^1/_2$ volume d'eau distillée. De cette façon, les tissus sont beaucoup moins abîmés, et l'on peut mieux fixer la localisation de l'alcaloïde.

L'*acide phosphorique* chaud peut être employé à la recherche de l'aconitine; mais comme il détruit les tissus, par suite de sa concentration et de la température à laquelle il est porté, il est préférable de ne s'en servir que comme moyen de contrôle pour vérifier les résultats acquis par l'iodure iodé et par SO^4H^2.

L'*acide phosphomolybdique* et l'*acide tannique* rendent plus opaque le contenu des cellules dans lesquelles la présence de l'alcaloïde a été constatée par les deux réactifs cités plus haut.

Ils ont donc servi, avec l'acide phosphorique, à vérifier les résultats obtenus.

L'aconitine se rencontre dans toutes les parties de la plante de l'*Aconitum Napellus*, et toujours dans le contenu cellulaire. Il n'y a, comme on le verra plus loin dans l'étude de la graine, qu'une seule exception à cette règle.

Racine. — A l'extrémité de la *racine*, au point végétatif, le tissu, sur une coupe transversale, se montre constitué par des séries concentriques de cellules arrondies. Sur une coupe longitudinale, les cellules, vers l'extrémité du point végétatif, sont toutes arrondies; mais à mesure qu'on s'en éloigne, les cellules centrales changent de forme, s'allongent et se différencient peu à peu en vaisseaux annelés.

L'alcaloïde se rencontre au point végétatif dans le *contenu* de *toutes* les cellules. Il y a en ce point une véritable accumulation; mais, sitôt que les cellules axiales commencent à se différencier en vaisseaux, la répartition de l'alcaloïde se modifie : la partie axiale ne renferme plus d'alcaloïde, et celui-ci s'est principalement porté au pourtour du faisceau, où il forme une zone continue. Il existe également dans toutes les cellules du parenchyme, mais en quantité moindre qu'au point végétatif.

Les poils radicaux n'en renferment pas.

Sur tout le parcours des radicelles, la disposition reste la même, la majeure partie de l'alcaloïde étant surtout concentrée autour du faisceau axile, ainsi que dans la couche sous-épidermique.

Ni les vaisseaux annelés ni l'épiderme ne renferment d'alcaloïde.

Dans la portion charnue du rhizome, la disposition change, et on y rencontre une accumulation d'aconitine dans tout le tissu. Dans cette région, les colorations obtenues par les réactifs microchimiques sont très intenses, et leur uniformité de teinte dans toute la coupe ne permet pas de présumer une localisation spéciale vers une partie quelconque du parenchyme.

Bourgeon. — Relié à la racine se trouve le *bourgeon* qui doit donner naissance à la nouvelle plante. La proportion d'alcaloïde y est assez considérable. Toutes les écailles en renferment, avec prédominance dans la couche sous-épidermique externe. La couche épidermique même des écailles en renferme, ainsi que tout le parenchyme.

Tige. — La *tige* de la plante à partir du collet est creuse, et elle est formée par un cercle de faisceaux entouré d'un parenchyme à cellules arrondies, surtout vers la périphérie.

L'aconitine se rencontre principalement autour des faisceaux, au voisinage du liber. La quantité est faible dans le parenchyme, et il existe une très légère accumulation vers les couches sous-épidermiques.

A chaque insertion de feuille sur la tige, le faisceau qui diverge de celle-ci pour aller dans la feuille est entouré d'une zone beaucoup plus riche en alcaloïde, la coloration par les réactifs étant plus intense.

Pétiole. — Dans le pétiole, le faisceau reprend le facies de ceux de la tige. Mais la quantité d'alcaloïde est plus considérable, et l'on en constate une accumulation aux deux bords du pétiole.

Feuille. — Dans la feuille même, l'aconitine est disséminée en très petite quantité dans tout le parenchyme. Il semble qu'il y ait une accumulation assez considérable dans les cellules stomatiques, qui se colorent fortement. Dans toute la feuille, l'aconitine continue toujours à se rassembler autour des faisceaux.

Fleur. — Dans le *casque* de la fleur, l'aconitine existe. Par SO^4H^2 et sucre, elle est difficile à reconnaître ; car la couche épidermique, dont les cellules renferment le principe colorant bleu de la fleur, prend par l'action de SO^4H^2 une belle coloration rouge, qui brunit et s'affaiblit, tandis que la teinte rose-carmin, propre à l'aconitine, est persistante. Comme localisation, il y a surtout prédominance de l'aconitine dans la couche externe, épidermique, avec accumulation contre les parois cellulaires les plus externes. On la rencontre également dans le parenchyme, la couche épidermique de la face interne du casque, à la base des poils et au pourtour des vaisseaux. De même que le casque, les *ailes* de la fleur renferment de l'aconitine en assez grande quantité et se retrouvant avec la même disposition que dans le casque.

Dans les pétales modifiés, allant vers la forme staminale, la quantité d'alcaloïde diminue et il se localise principalement à leur base. Les *étamines* renferment aussi de l'aconitine, principalement à la base et dans la partie axiale du filet. Dans les anthères, on n'en trouve pas.

Toutes les parties de l'*ovaire* et de l'*ovule* contiennent de l'aconitine, qui a une tendance dans ces organes à se masser dans les cellules sous-épidermiques. L'ovule en renferme beaucoup, ainsi que le pistil.

Graine. — Dans la *graine*, des coupes transversales et longitudinales traitées par les réactifs de l'aconitine ont donné les réactions de cet alcaloïde, et avec une intensité presque égale dans tous les sens. L'embryon, lui, en renfermerait un peu plus.

La couche épidermique de la graine est formée par une assise de cellules allongées à parois très épaisses, colorées en brun, et immédiatement en dessous de cette couche épidermique se trouve une membrane constituée probablement par des cellules désorganisées, membrane qui au contact de l'iode se colore en brun, et qui prend une teinte rouge par SO^4H^2 et sucre ; de plus, elle se colore en violet par l'acide phosphorique chaud. Cette particularité est remarquable, car, nulle part ailleurs que dans la graine, on ne trouve de parois cellulaires renfermant de l'aconitine (1).

En résumé, on peut dire que l'aconitine est répandue dans toute la plante de l'*Aconitum Napellus*, mais non également dans toutes les parties.

La forte proportion d'alcaloïde dans deux parties, au point végétatif et dans l'ovaire, où l'activité cellulaire est très considérable, doit être remarquée.

Outre l'ovaire et le point végétatif, on rencontre encore l'aconitine, en quantité considérable, dans la racine, la fleur et les semences. Dans la tige, l'alcaloïde est surtout localisé au pourtour des faisceaux et vers l'épiderme.

La réaction par l'acide sulfurique et le sucre peut s'obtenir aussi sur la plante sèche, ramollie au préalable par la vapeur d'eau tiède : il faut avoir soin d'employer un acide très concentré. Mais les localisations sont dans ce cas beaucoup moins nettes que sur la plante fraîche.

---

(1) D'après les recherches récentes de Clautriau, il n'y a pas ici d'alcaloïde dans les membranes. (Clautriau, *Alcaloïdes de quelques graines*, dans ce même volume, et Idem, *Caféine*, dans le tome Ier du *Recueil*.) [Note ajoutée par L. Errera.]

§ 4. — *Narcissus.*

Un intérêt spécial s'attache à l'étude de l'alcaloïde des Narcisses : c'est, en effet, la microchimie qui nous l'a fait découvrir, l'addition d'iode à une section de tige de Narcisse nous ayant donné un jour, par hasard, un précipité rougeâtre, si net, si caractérisé, que la présence d'un alcaloïde nous sembla aussitôt extrêmement probable. Notre attente a été pleinement confirmée. Plus tard, nous avons trouvé que la présence de cet alcaloïde avait déjà été signalée en 1877 par Gerrard, dans une courte et incomplète notice à peu près inconnue (¹). Mais cela importe peu au point de vue qui nous occupe, et un fait capital n'en demeure pas moins établi : les méthodes microchimiques permettent non seulement de localiser dans les tissus les substances déjà décrites, elles peuvent même, dans certains cas, en faire découvrir de nouvelles.

Les seules propriétés chimiques indiquées par Gerrard pour l'alcaloïde qu'il a extrait du bulbe de *Narc. Pseudo-Narcissus* sont les suivantes : masse jaunâtre, amorphe, soluble dans l'eau, l'éther, l'alcool, le chloroforme et la benzine, donnant des précipités avec le phosphomolybdate de soude et l'acide nitrique, l'acide tannique, l'iodure double de mercure et de potassium, le tétrachlorure de platine, le sulfocyanate de potassium et les solutions de potasse, de soude et d'ammoniaque; le précipité formé par l'ammoniaque est soluble dans un excès. Au point de vue physiologique, cet alcaloïde est amer, émétique, légèrement purgatif, et cause une salivation excessive.

(¹) *The proximate principles of the Narcissus Pseudo-Narcissus.* (Pharm. Journal and Trans., 15 sept. 1877.)

Nous nous occupons actuellement d'extraire l'alcaloïde des Narcisses. Mais cette recherche n'est pas terminée, et nous nous bornerons ici à donner les réactions microchimiques ainsi que la localisation histologique de cette substance, que nous sommes à même d'indiquer avec précision.

Le précipité par l'iodure de potassium iodé s'obtient chez toutes les espèces de *Narcissus* que nous avons examinées et toujours aux mêmes places : *N. rugulosus*, *N. Pseudo-Narcissus*, *N. incomparabilis*, *N. Tazetta*, *N. poeticus*. La substance est très peu abondante dans cette dernière espèce, tandis qu'elle existe surtout en quantité considérable dans le *N. rugulosus :* aussi avons-nous choisi cette espèce pour une étude microchimique approfondie.

Lorsque l'on coupe une hampe florale ou une feuille de *Narcissus rugulosus*, on voit immédiatement apparaître à la surface de section une grosse goutte de suc aqueux, qui renferme beaucoup de raphides d'oxalate de chaux, une matière gommeuse et plusieurs substances dissoutes, entre autres une grande quantité d'alcaloïde. Si l'on dépose cette goutte sur une lame de verre, il en arrive tout de suite une autre, et la même chose peut se renouveler une douzaine de fois quand on a affaire à une plante vigoureuse. Pour une hampe de 4 à 5 millimètres de diamètre, on recueille ainsi sans peine un demi-centimètre cube de suc. Il est facile de soumettre ces gouttelettes de liquide, soit directement, soit après évaporation, à divers réactifs. C'est ce que nous avons fait, et l'on va voir que nous avons pu reproduire ainsi toutes les réactions générales des alcaloïdes et quelques réactions spéciales qui ne manquent pas d'intérêt.

Outre les aiguilles d'oxalate de chaux déjà citées, le suc laisse à l'évaporation divers résidus représentés figure 3. Les résidus *a*, *b*, *c*, *d*, *d'*, *e*, *f*, *g* sont cristallins, les uns uniréfringents, les autres biréfringents ; aucun d'eux ne donne de précipité avec l'iodure de potassium iodé, et il est donc inutile de nous y arrêter davantage dans ce travail. Au contraire, le résidu *h* précipite par l'iode et répond ainsi à l'alcaloïde : il est formé de masses très petites, irrégulières, amorphes, uniréfringentes, légèrement jaunâtres, solubles dans l'eau et dans l'alcool.

Les réactifs, agissant sur une goutte de suc évaporé lentement à sec, donnent les résultats suivants :

1. *Iodure de potassium iodé :* précipité rouge brun abondant, qui pâlit et disparaît au bout d'une heure ou davantage. Une nouvelle addition d'iode ne fait pas réapparaître le précipité.

2. *Iodure double de mercure et de potassium :* précipité blanc jaunâtre, abondant.

3. *Acide phosphomolybdique :* précipité blanc ocracé, granuleux, soluble dans la potasse.

4. *Acide picrique :* précipité jaune, granuleux.

5. *Tannin :* précipité blanc, finement granuleux, abondant.

6. *Bichlorure de mercure :* précipité blanc finement granuleux, peu abondant.

7. *Réactif de Fröhde :* coloration rose jaunâtre sale, fugitive.

8. *Acide chlorhydrique concentré :* pas de coloration, mais un précipité grenu, cristallin, incolore, qui provient de la désagrégation et de la transformation des cristaux *d* et *d'* de la figure 3. Cette réaction n'a donc probablement rien de commun avec l'alcaloïde.

9. *Tétrachlorure de platine :* précipité jaune qui ressemble beaucoup à celui de l'acide chlorhydrique. (Peut-être notre chlorure de platine renfermait-il de l'acide chlorhydrique libre.)

10. *Perchlorure de fer :* coloration jaune fauve; jaune verdâtre en couche épaisse.

11. *Sulfocyanate de potassium + sulfate de zinc :* précipité blanc rosé sale, peu abondant.

12. *Acide sulfurique concentré :* coloration intense, jaune un peu verdâtre.

13. *Acide nitrique concentré :* coloration jaune.

14. *Acide sulfurique + acide nitrique :* coloration violet rosé fugitive, puis brunâtre, puis jaune fauve, après quoi le liquide pâlit de plus en plus. L'addition de *potasse* jusqu'à réaction franchement alcaline fait passer alors au jaune orangé.

15. *Potasse* seule : coloration jaune un peu verdâtre, à peu près comme SO^4H^2.

16. *Nitrate d'argent* à 2 °/₀ : donne simultanément deux précipités blancs : l'un cristallin, biréfringent, en masses radiées, prove-

nant des cristaux *d*, *d'*, figure 3; l'autre granuleux, uniréfringent, probablement dû à l'alcaloïde.

17. *Acide sulfurique + un cristal de bichromate de potassium :* coloration bleu verdâtre.

L'ensemble de ces réactions ne laisse pas de doute sur l'existence d'un alcaloïde. Plusieurs d'entre elles — notamment l'acide sulfurique additionné successivement d'acide nitrique et de potasse — rappellent la colchicine. Mais il y a des différences dans quelques caractères accessoires, de sorte qu'il faut attendre des recherches ultérieures avant de se prononcer sur l'identité ou la non-identité des deux alcaloïdes, d'autant plus que les effets physiologiques indiqués par Gerrard rappelleraient plutôt les alcaloïdes des *Veratrum* et *Sabadilla*.

Passons aux essais microchimiques proprement dits.

Dans les cellules du *Narcissus rugulosus*, l'alcaloïde se trouve toujours à l'état de dissolution dans le suc cellulaire, jamais dans la membrane.

L'*iodure de potassium iodé* provoque dans les cellules à alcaloïde la formation d'un précipité rouge brun abondant, qui disparaît au bout de quelque temps si la préparation reste dans le réactif. Mais si on la laisse se dessécher immédiatement, le précipité se conserve presque indéfiniment. Le précipité est généralement constitué par des granules extrêmement ténus, agités d'un vif mouvement brownien. Il est facilement soluble dans l'hyposulfite de soude.

L'*iodure double de Hg et de K* produit dans les mêmes cellules un précipité blanchâtre peu apparent, insoluble dans l'acide chlorhydrique.

Nous avons aussi essayé le *tannin*, l'*acide phosphomolybdique*, l'*acide picrique*, qui donnent des précipités blanchâtres dans les mêmes cellules.

L'*acide sulfurique* concentré, agissant sur une coupe fraîche, mais non additionnée d'eau, donne une coloration vert bleu magnifique dans les cellules à alcaloïde. En même temps, les membranes lignifiées des vaisseaux se colorent ordinairement en violet (réaction de la coniférine), quelquefois en jaune verdâtre. Il se produit aussi dans certaines régions des colorations bleues, jaunes, rose violacé, auxquelles nous ne pouvons nous arrêter ici. Disons seulement que la coloration vert bleu indiquée plus haut paraît due à la production simultanée d'une coloration jaune et d'une coloration bleue, dans les mêmes cellules. Quoi qu'il en soit, cette coloration pâlit à la longue en devenant jaune verdâtre.

L'addition de quelques cristaux de nitrate de potassium fait passer rapidement la couleur du vert au brun.

L'alcaloïde étant ainsi caractérisé dans les tissus, nous pouvons indiquer exactement où il est localisé.

Racines. — L'alcaloïde s'observe :

1° Autour du cylindre fibro-vasculaire central, notamment dans l'endoderme (fig. 4 et 5) ([1]) et, à un moindre degré, dans les cellules du parenchyme cortical voisines. Remarquons qu'il n'y a pas d'amidon dans l'endoderme, tandis que les couches de parenchyme immédiatement contiguës en renferment souvent ;

2° Dans quelques cellules parenchymateuses ordinaires disséminées çà et là dans l'écorce ;

3° Dans les longues cellules à raphides (vaisseaux utriculeux de Hanstein) qui existent dans l'écorce. Ces cellules renferment aussi un noyau ;

4° Dans les 2-3 couches les plus superficielles de l'écorce ;

5° Dans les cellules annexes (*Geleitzellen*) des tubes criblés ;

6° Dans les cellules parenchymateuses allongées et minces qui séparent, dans le faisceau central de la racine, les groupes libériens des groupes ligneux. En revanche, nous n'avons trouvé l'alcaloïde ni dans les régions ligneuses du faisceau, ni dans les tubes criblés, ni dans le péricambium (fig. 4).

Hampe florifère. — La hampe, pleine à sa base, est fistuleuse à partir d'un certain niveau. Elle présente environ soixante-dix faisceaux fibro-vasculaires disposés, d'une manière assez peu régu-

---

([1]) Dans toutes nos figures, la coloration brun rouge indique l'alcaloïde.

lière, en quatre cercles concentriques. Plutôt que de fatiguer le lecteur par une longue description histologique, nous le renvoyons aux figures 6 et 7, ainsi qu'à la section longitudinale radiale, figure 8. Comme on le reconnaît sur ces dessins, chaque faisceau est entouré, en dedans de la gaine amylifère (bien apparente sur la fig. 7), de cellules *circumfasciculaires* très allongées, à noyau net, formant une gaine continue qui a une épaisseur d'une ou plusieurs couches cellulaires. Dans l'épiderme, on aperçoit les stomates (fig. 6 et 8); dans le parenchyme fondamental, les *cellules à raphides* ou *vaisseaux utriculeux* (fig. 8). Ces cellules à raphides existent en très grand nombre dans la hampe et elles y forment de longues files verticales. On sait que ces cellules, comprimées par le parenchyme environnant, expulsent très facilement leur contenu à la moindre entaille que l'on fait. Leurs parois transversales sont très peu résistantes, de sorte que toute une file de cellules se vide sur plusieurs centimètres de longueur et déverse son contenu sur la surface de section. Les raphides d'oxalate de chaux agissent comme de vraies aiguilles et contribuent largement à la déchirure des parois transverses.

Ainsi s'explique la grande quantité de suc que l'on peut recueillir en coupant une hampe. Or, nous savons que le suc ainsi obtenu renferme beaucoup d'alcaloïde, et les cellules à raphides du Narcisse nous apparaissent donc comme les lieux de dépôt principaux de ce corps.

C'est là un raisonnement irréprochable, mais nous avons tenu à le confirmer par l'observation directe. Ce n'est pas chose facile. Grâce précisément au mécanisme d'expulsion qui vient d'être expliqué, les cellules à raphides sont toujours vides dans les coupes microscopiques; tout au plus y trouve-t-on, çà et là, quelques aiguilles d'oxalate de chaux restées en chemin. Pour y démontrer la présence de l'alcaloïde, il fallait donc fixer leur contenu. Après plusieurs tâtonnements, nous y sommes parvenus en prenant une plante intacte (bulbe compris) et en y faisant des coupes longitudinales *avec un rasoir baigné d'iodure de potassium iodé*. Le contenu des cellules est ainsi coagulé avant de pouvoir s'écouler, et l'on voit dans les cellules à raphides un précipité rouge brun très abondant. Autour du précipité, on distingue vaguement une masse gommeuse incolore, et autour de celle-ci, la membrane cellulaire (fig. 9).

En dehors des longues et nombreuses files de cellules à raphides, l'alcaloïde existe encore (fig. 6, 7, 8) :

1° Dans les cellules épidermiques (*ép*);

2° Dans les longues cellules circumfasciculaires, surtout du côté du liber de chaque faisceau (fig. 10; fig. 6, 7, 8, *cf*);

3° Dans les cellules annexes, qui accompagnent les tubes criblés (fig. 7, *a*; fig. 8, *l*; fig. 11);

4° Parfois, en petite quantité, dans les cellules ordinaires du tissu fondamental, surtout dans la région centrale, destinée à disparaître lorsque la hampe devient fistuleuse (fig. 6, *x*).

L'alcaloïde manque aux vaisseaux, aux tubes criblés, aux cellules de bordure des stomates et, ordinairement, au parenchyme subépidermique contenant de la chlorophylle.

On voit que tous les éléments de la hampe riches en alcaloïde sont allongés dans le sens vertical. Aussi faut-il toujours avoir recours à des coupes longitudinales; les coupes transversales entament les éléments à alcaloïde et le répandent alors sur toute la préparation, ce qui peut donner lieu à de graves erreurs.

Nous avons encore trouvé l'alcaloïde dans les feuilles, les fleurs, les parois de l'ovaire, les ovules, le bulbe.

On constate que cet alcaloïde (comme la colchicine) résiste très bien à la putréfaction.

L'expérience suivante a aussi été faite :

Quelques pieds de Narcisse, croissant en plein air, ont été couverts pendant quinze jours d'une cloche noire. Au bout de ce temps, l'alcaloïde existe encore en grande quantité dans les tissus; l'amidon a naturellement disparu.

§ 5. — *Canna.*

Essmanoffsky (*loc. cit.*) a rapporté à un alcaloïde des sphérocristaux qui se forment sous l'influence de l'alcool dans des canaux intercellulaires des tiges et rhizomes de *Canna*. Cette observation mériterait d'être confirmée.

§ 6. — *Veratrum album.*

Borscow (*loc. cit.*) n'a caractérisé microchimiquement la vératrine que par l'acide sulfurique (1 partie d'acide, 2 parties d'eau). Il a constaté sa présence dans l'épiderme et autour des faisceaux fibro-vasculaires — ce qui concorde très bien avec nos observations sur d'autres plantes. Mais nous sommes moins portés à admettre sans contrôle son assertion que la vératrine est surtout contenue *dans les membranes* des cellules. Il faudrait examiner s'il n'a pas été induit en erreur par un phénomène de diffusion, produit par son réactif.

§ 7. — *Solanum.*

Schaarschmidt (*loc. cit.*) a recherché la solanine au moyen de l'acide nitrique ou de l'acide sulfurique médiocrement concentré : tous deux la colorent en rose. Il l'a trouvée dans plusieurs *Solanum* et dans les *Capsicum annuum*, *Lycopersicum esculentum*, *Mandragora officinalis.*

Dans le tubercule de la pomme de terre, la solanine se localise dans les cinq ou six couches cellulaires au-dessous du périderme, peut-être dans l'assise phellogène, et en petite quantité autour des faisceaux fibro-vasculaires. Dans la tige, ce glycoside existe dans le collenchyme subépidermique.

On l'observe aussi à la face supérieure de la nervure principale des feuilles, mais non dans leur parenchyme assimilateur. Il a été reconnu enfin dans l'épiderme externe des sépales chez le *Solanum nigrum*, et dans quelques cellules subépidermiques de la racine du *S. tuberosum.*

§ 8. — *Strychnos.*

Otto Lindt (*loc. cit.*) a cherché à caractériser microchimiquement la *brucine* dans les graines de *Strychnos Nux vomica* et *S. Ignatii*, par l'acide sélénique additionné d'acide nitrique. Il trouve que la brucine se localise dans les membranes épaissies de l'endosperme, surtout vers les couches périphériques. Malheureusement il a commis l'erreur que nous avons déjà signalée à propos de la colchicine : il a traité préalablement les coupes par l'éther de pétrole, afin d'enlever la matière grasse, et sans s'apercevoir que les alcaloïdes devaient être entraînés en même temps. Il reste donc encore à établir si la brucine a réellement son siège dans les membranes cellulaires. Nous n'entendons pas le nier, mais nous estimons que cela n'est pas encore prouvé.

Quant à la *strychnine*, Lindt s'est servi du sulfate de cérium dans l'acide sulfurique, pour la caractériser dans les graines des deux espèces de *Strychnos* indiquées. Ce réactif colore la strychnine en bleu violet. L'auteur trouve de nouveau que l'alcaloïde se localise dans les membranes épaissies de l'endosperme et, de plus, dans l'embryon. Mais la remarque faite à propos de la brucine s'applique encore davantage ici, attendu que Lindt a d'abord soumis ses coupes à une « macération répétée (*sic!*) dans l'éther de pétrole », puis dans l'alcool.

Nos réserves sont d'autant plus nécessaires, que Rosoll (*loc. cit.*) a obtenu des résultats tout différents. Il a recherché la strychnine au moyen de l'acide sulfurique et du bichromate de potassium, et il conclut que l'alcaloïde est en solution dans les gouttes d'huile de l'endosperme et manque complètement dans les membranes.

CHAPITRE III.

RÉSULTATS GÉNÉRAUX.

Le nombre des espèces étudiées dans ce travail n'est pas considérable. Cependant, elles appartiennent à des groupes si variés et, malgré cela, elles nous ont donné des résultats si concordants, qu'il semble permis d'énoncer dès à présent quelques conclusions qui se présentent d'elles-mêmes.

§ 1. — *Topographie des alcaloïdes.*

En général, les alcaloïdes sont le plus abondants :

1° Dans les tissus très actifs : point végétatif, embryon, etc.;

2° Autour des faisceaux fibro-vasculaires (endoderme, gaine circumfasciculaire), surtout près de la région libérienne et dans cette région même;

3° Dans l'épiderme, les poils épidermiques, les couches corticales externes, les enveloppes du fruit et des graines;

4° Enfin, pour les plantes qui ont des éléments sécrétoires spéciaux, les alcaloïdes se déposent en grande quantité dans ces éléments (laticifères de *Papaver,* cellules à raphides de *Narcissus*).

Dans la grande majorité des cas, les alcaloïdes se trouvent certainement *à l'intérieur des cellules*, dissous dans le suc cellulaire aqueux, peut-être aussi, chez certaines espèces, dans de l'huile ou dans des matières mucilagineuses. Ce n'est guère que dans les graines qu'ils paraissent imprégner parfois la membrane (*Aconitum; Strychnos?)*; mais ce point n'est pas encore établi d'une manière définitive. Il est probable qu'il s'agit alors de cellules mortes et plus ou moins désorganisées.

§ 2. — *Physiologie et biologie des alcaloïdes.*

Le moment n'est pas encore venu d'édifier une théorie complète au sujet de la signification des alcaloïdes. Cependant quelques traits essentiels nous paraissent se dégager dès à présent, et il ne sera pas superflu de les indiquer en peu de mots.

Les alcaloïdes ne sauraient guère être envisagés que comme des DÉCHETS *de l'activité protoplasmique* (1). En effet, il est prouvé par l'expérience qu'ils ne peuvent pas servir d'aliment azoté aux végétaux (2) et qu'ils sont généralement toxiques pour la plante même qui les produit (3). Aussi les trouvons-nous dans le suc cellulaire, où la membrane de la vacuole centrale résiste à leur diffusion et les sépare efficacement du protoplasme vivant (4). Lorsqu'il existe des éléments sécrétoires spéciaux (cellules à raphides, laticifères), nous savons déjà que les alcaloïdes s'y déposent en grande quantité : c'est une véritable *élimination intérieure*, dont nous expliquerons tantôt l'utilité biologique.

Les belles recherches récentes d'Arm. Gautier pour le règne animal (5) apportent à ces vues une puissante confirmation. Et il semble aujourd'hui que partout, chez tous les êtres, la vie des cellules produise des alcaloïdes, en quantité variable suivant les espèces, et que le protoplasme cherche ensuite à s'en débarrasser, soit par oxydation, soit par élimination.

Cette propriété générale paraît s'être développée à un degré extrême chez certaines plantes, par suite de la sélection naturelle. En effet, les alcaloïdes, par leur toxicité, constituent pour les plantes un moyen de protection inestimable : on peut dire que quelques grammes d'un alcaloïde protègent une plante contre les dévastations des animaux, aussi efficacement que les plus fortes épines (¹).

---

(1) Cf. SACHS, *Vorles. üb. Pflanzenphysiologie*, 1882, pp. 396-397.

(2) PFEFFER, *Pflanzenphysiologie*, I, 243.

(3) SCHÜBLER, *Flora*, 1827, II, p. 757.

(4) Cf. DE VRIES, *Jahrb. f. wiss. Bot.*, XVI, p. 540. — PFEFFER, *Ueb. Aufnahme von Anilinfarben*. (UNTERS. AUS DEM BOT. INST. TÜBINGEN, II, 1886, p. 327.)

(5) *Ptomaïnes et leucomaïnes*, 1886.

D'après ces quelques indications, la topographie des alcaloïdes s'interpréterait le mieux, à ce qu'il nous semble, de la manière suivante :

Ils sont produits essentiellement dans les tissus actifs où les matières albuminoïdes sont soumises à des décompositions et à des transformations perpétuelles : c'est le cas des points végétatifs, de tous les organes très jeunes, et aussi de la région libérienne des faisceaux, où les matières albuminoïdes siègent en si grande abondance.

Formés ainsi dans les tissus actifs, les alcaloïdes sont transportés vers la périphérie, de manière à s'oxyder plus facilement et à y servir en même temps à la protection de la plante contre les atteintes des animaux.

Enfin, lorsqu'il existe des rangées de cellules sécrétoires (*Narcissus*) ou des laticifères continus (*Papaver*), les plantes trouvent là un excellent déversoir pour y jeter leurs alcaloïdes. Et comme le contenu de ces cellules et de ces laticifères se trouve sous la pression des parenchymes environnants, la moindre blessure, le moindre coup de dent d'un animal, fait affluer aussitôt une grande quantité du suc vénéneux. Nous avons déjà dit que l'observation montre avec évidence combien ce mode de protection est efficace. On comprend aussi, de cette manière, pourquoi les alcaloïdes s'accumulent souvent en grande quantité autour des fruits et des graines, que la plante a si grand besoin de défendre contre la voracité des animaux.

(¹) Ce fait a été établi par l'un de nous : L. ERRERA, *Efficacité des structures défensives des plantes.* (BULL. DE LA SOC. ROY. DE BOT. DE BELGIQUE, t. XXV, 1886.) [Note ajoutée lors de l'impression.]

Si les idées qui viennent d'être énoncées sont exactes, un parallélisme remarquable apparaît entre les plantes vénéneuses et certains animaux venimeux : serpents, crapauds, etc. De part et d'autre, la propriété générale du protoplasme de donner naissance, normalement, à des produits toxiques, aurait été exploitée en quelque sorte par la sélection naturelle, au profit de l'organisme et au détriment de ses ennemis.

Bruxelles, juin 1886.

EXPLICATION DES FIGURES

Dans toutes ces figures, la coloration brun rouge indique la présence d'un alcaloïde, précipité par l'iodure de potassium iodé. Les chiffres entre parenthèses donnent le grossissement.

Colchicum autumnale.

Figure 1 ($^{1}/_{2}$). — Coupe longitudinale d'un bulbe, vers la fin de l'hiver : *b*, bulbe de l'année précédente avec les restes des feuilles qui le couronnaient; *b'*, bulbe de l'année, avec les feuilles nouvelles.

Figure 2 ($^{130}/_{1}$). — Bulbe de l'année, coupe longitudinale. Un faisceau fibrovasculaire a été coupé suivant sa longueur; deux autres se présentent en section transversale : *ép*, épiderme; *p*, parenchyme, rempli de grains d'amidon (omis dans le dessin); *b*, vaisseaux du bois; *l*, liber; *cf*, cellules de la gaine circumfasciculaire.

Narcissus rugulosus.

Figure 3 ($^{160}/_{1}$). — Résidus divers obtenus par l'évaporation lente du suc de la hampe :

a, aiguilles d'oxalate de calcium;
b, masses cristallines en forme de croix, solubles dans l'eau;
c, petits cristaux de même nature que *b*;
d, *d'*, arborisations cristallines radiées, peu solubles dans l'eau;
e, arborisations cristallines ramifiées, peu solubles dans l'eau, probablement de même nature que *d* et *d'*;
f, concrétions obscurément cristallines, ayant un aspect nacré entre nicols croisés, solubles dans l'eau et donnant souvent, quand on réévapore cette solution, des masses nettement cristallines, *g*;
h, gouttelettes irrégulières, légèrement jaunâtres, solubles dans l'eau, donnant un précipité brun par IKI, intimement adhérentes à la matière mucilagineuse qui provient des cellules à raphides.
b, *c*, ainsi que *h* sont uniréfringents; *d*, *d'*, *e*, *f*, *g*, ainsi que *a*, sont biréfringents.

Figure 4 ($^{160}/_{1}$). — Racine, coupe longitudinale radiale : *b*, bois; *c*, péricambium; *e*, endoderme à parois radiales plissées; *p*, *p'*, parenchyme fondamental. Les cellules de la couche *p'* renferment des grains d'amidon.

Figure 5 $(^{160}/_{1})$. — Racine, coupe tangentielle montrant les cellules de l'endoderme engrenées ensemble par leurs parois radiales et riches en alcaloïde.

Figure 6 $(^{60}/_{1})$. — Hampe, coupe transversale : *ép*, épiderme; *cf*, cellules circumfasciculaires; *u*, cellules à raphides; *x*, cellules du parenchyme central, renfermant un peu d'alcaloïde.

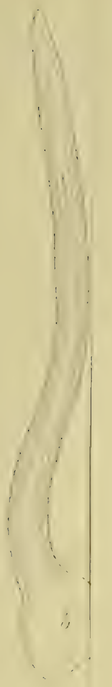
Figure 7 $(^{160}/_{1})$. — Portion plus fortement grossie de la coupe précédente, pour montrer la structure des faisceaux fibro-vasculaires. Le bois et le liber sont entourés des cellules circumfasciculaires, *cf*, et de la gaine amylifère, *p'* (les grains dans ces dernières cellules représentent de l'amidon); *t*, tubes criblés : deux de ces tubes ont précisément été coupés au niveau d'un crible, comme on le voit dans la figure; *a*, cellules annexes des tubes criblés.

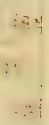
Figure 8 $(^{110}/_{1})$. — Hampe, coupe longitudinale radiale : *ép*, épiderme avec les petites cellules de bordure des stomates: P', couche de parenchyme en palissade, avec de nombreux grains de chlorophylle; P, couches de parenchyme, avec grains de chlorophylle de moins en moins nombreux et de moins en moins colorés; *u*, cellules à raphides (vaisseaux utriculeux de Hanstein), qui sont le siège principal de l'alcaloïde; *p*, parenchyme incolore, à grandes cellules; *p'*, gaine amylifère, formée de cellules plus courtes qui sont disposées tout autour du faisceau, mais ne renferment ordinairement d'amidon que sur les côtés de celui-ci, comme le montre la figure 7; *cf*, cellules circumfasciculaires, longues et étroites; *l*, liber : des tubes criblés y alternent assez régulièrement avec des cellules annexes très minces; *b*, vaisseaux du bois. (Ces vaisseaux, qui étaient seulement esquissés dans le dessin original, n'ont pas été très bien rendus par la gravure.)

Figure 9 $(^{160}/_{1})$. — Hampe, coupe longitudinale : deux cellules à raphides, fixées par l'iode. On y distingue la membrane (*a*, *a*); une masse mucilagineuse (*b*, *b*) non colorable par l'iode; et une partie centrale (*c*), occupée par des raphides et par un suc aqueux riche en alcaloïde, où le réactif iodé a produit un précipité rouge brun très abondant.

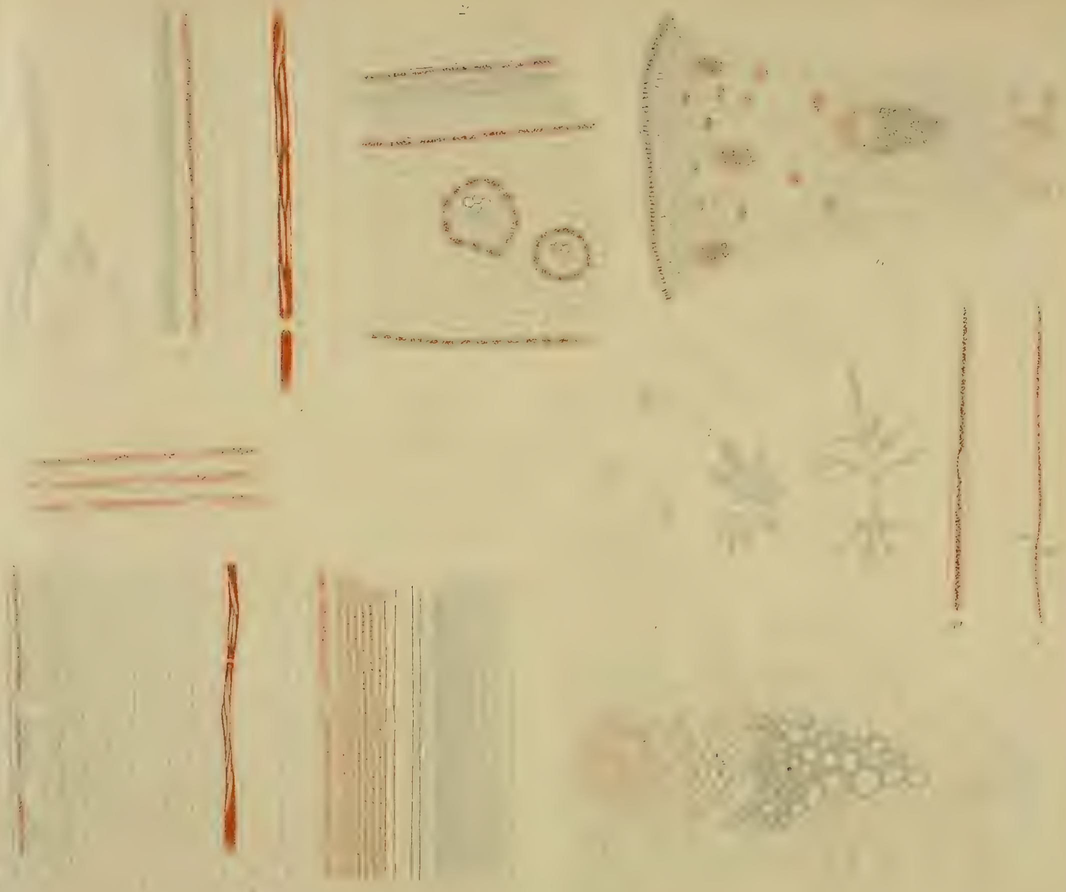
Figure 10 $(^{290}/_{1})$. — Hampe, coupe longitudinale : une cellule de la région *cf* (fig. 8), plus fortement grossie. On remarque l'utricule protoplasmique contracté avec le noyau; et, dans la cavité de l'utricule, le précipité granuleux d'alcaloïde.

Figure 11 $(^{290}/_{1})$. — Hampe, coupe longitudinale : deux tubes criblés, avec une cellule-annexe entre eux. Celle-ci est remplie de précipité rouge brun, mêlé à du protoplasme granuleux.





[illegible] L. Errera Maistriau et Clautriau



A. [illegible] Lith

SOME GENERAL RESULTS

ON THE

LOCALISATION OF ALKALOIDS IN PLANTS

BY

L. ERRERA (¹)

Microchemistry does not claim in any way to supplant chemistry. But its great value consists in permitting an approach to problems unattainable by ordinary analytical methods, and to accomplish for physiological (and also for petrographic) chemistry the work of penetration and localisation which the microscope realises for structure.

For a long time botanical microchemistry has dealt with a limited number of bodies and reactions : cellulose, starch, reducing sugars, inulin, proteid matters, asparagin, tannins, silica, and calcium compounds. Gradually a series of interesting bodies have been added to the original scanty list, such as sulphur, glycogen, salts of iron and other bases, alkaloids, myrosin, certain glycosids, prussic acid, etc.

Although a few valuable preliminary researches had already appeared, a more methodical attempt to localise, in the various tissues, the important group of alkaloids was made in a paper I published in 1887, in collaboration with two of my pupils,

---

(¹) Cette note a paru dans les *Proceedings of the British Association*. Session de Cambridge, 1904.

Dr. Maistriau and the lamented Dr. Clautriau. We used a great number of general as well as special reagents of the different alkaloids which we examined, for the sake of their mutual control. In consequence of the fact that many alkaloids are closely related to proteids, a great analogy exists in the action of many general reagents on both classes of compounds. This is, of course, a serious difficulty in microchemical determinations. But an alcoholic solution of tartaric acid separates clearly the two groups, dissolving the former from the cells and leaving the latter undissolved, and this method has always given very good results.

Similar lines of investigation have been followed with success within the last eighteen years by a number of my pupils and by many other observers, principally in Holland and Sweden; further also in France, Germany, and Italy.

The more important conclusions arrived at by these researches (which must, of course, be conducted critically) might be summarised as follows :

1. The qualitative and to some extent the quantitative distribution of alkaloids (especially those belonging to the pyridic series) can be determined microchemically in the various organs of plants with perfect certainty.

2. In living cells the alkaloids are eliminated from the protoplasm and gather in the vacuole. It is only in cells which have lost all their liquid contents (as in ripe seeds) or in dead cells that they accumulate in the protoplasm or the cell-wall.

3. The alkaloids are generally localised :

a) In very active tissues : chiefly in the neighbourhood of growing points (a little behind the initial cells), in the ovules, etc.;

b) In the epidermis, the epidermic hairs, often also in the subepidermic layers of vegetative organs, as well as the outer layers of fruits and seeds;

c) Round the fibro-vascular bundles, in certain of their phloem-elements and in the neighbourhood of the pericycle;

d) In the phellogen and the youngest cork-cells (either normal or consecutive to traumatism);

e) In the laticiferous or similar elements, when present.

4. By means of the microchemical tests many new alkaloid-plants have been discovered, the result being afterwards confirmed by the usual chemical methods *e. g.* certain Orchidaceæ (where alkaloids were formerly quite unknown), Amaryllidaceæ, Papaveraceæ, Ranunculaceæ, Solanaceæ, etc.

5. Although the investigation of animal tissues is particularly delicate, observations (yet unpublished) show that even here a microchemical identification of organic bases is sometimes possible — for instance, in *Salamandra*.

6. Granting that the physiology of alkaloids is far from settled, I think a critical study of their topography as well as their behaviour in germination, growth, etiolation, maturation of seeds, etc., supports the view that they are waste-products, resulting from the catabolism of cytoplasm, and secondarily utilised for defence against animals. A few grams of an alkaloid constitute a protection not less efficient than the strongest spines.

The diminution of the proportion of alkaloids in a given plant is often wrongly interpreted as a proof of their direct consumption as plastic material. But the decrease may be only apparent — for example, when, the alkaloids remaining unchanged, the amount of other substances becomes greater. Secondly, the fact that a body disappears from the plant does not demonstrate that it has been used as food : it may have been eliminated in a volatile state or otherwise transformed. Thirdly, it must not be forgotten that the percentage of nitrogen in alkaloids is generally very small, so that they would be a very poor nitrogen-store. Even in the case of caffein, which is exceptionally rich in nitrogen, numerous experiments of Clautriau, confirmed afterwards by Suzuki, lead to the conclusion that it is not a plastic substance. This, nevertheless, does not exclude the possibility of certain products of the splitting-up of the alkaloid molecule being ulteriorly resumed by anabolism, just as the essentially catabolic CO_2 formed in respiration can serve to regenerate starch in the green cell.

NOTES DE TECHNIQUE MICROSCOPIQUE

DU

LABORATOIRE D'ANATOMIE ET DE PHYSIOLOGIE VÉGÉTALES DE L'UNIVERSITÉ DE BRUXELLES

SUR
LA DISTINCTION MICROCHIMIQUE
DES
ALCALOÏDES ET DES MATIÈRES PROTÉIQUES

PAR

L. ERRERA ([1])

Lorsque l'on a affaire à des alcaloïdes doués de réactions *caractéristiques et spéciales,* leur localisation microchimique dans les tissus ne présente pas, d'ordinaire, de trop grandes difficultés. La question devient beaucoup plus délicate quand les réactions spéciales font défaut ou sont inapplicables, et que l'on est obligé de s'en tenir aux réactifs généraux. Ces réactifs, en effet, n'agissent pas seulement sur les alcaloïdes, mais encore sur la plupart des matières protéiques — nous prenons ce terme dans son sens le plus large — et notamment sur les peptones. Or, on sait que les matières protéiques font partie intégrante de tout protoplasme, et quant aux peptones, Schulze et Barbieri ont indiqué qu'elles sont assez répandues dans le règne végétal, bien qu'elles s'y trouvent toujours en petite quantité. Il est donc important de comparer les

---

([1]) Ce travail a paru dans les *Annales de la Société belge de microscopie,* (Mémoires), t. XIII, 2e fascicule, 1889, p. 73.

réactions des peptones et des autres matières protéiques avec celles des alcaloïdes, pour chercher un moyen de les distinguer microchimiquement.

§ 1er. — Réactions macrochimiques.

D'après le Manuel de Beilstein (¹), la solution aqueuse des peptones est précipitée par l'acétate neutre de plomb ammoniacal, par le sublimé, l'acide phosphomolybdique, l'acide picrique, le tannin, le tétrachlorure de platine, l'iodure double de mercure et de potassium, l'eau de brome. Elle n'est pas précipitée par l'acide acétique et le ferrocyanure de potassium (différence d'avec les autres corps protéiques), ni par l'acétate de plomb, ni par le sulfate de cuivre. La solution de peptone dans l'acide acétique glacial prend par l'addition d'acide sulfurique la même coloration violette que la solution analogue d'albuminoïdes (Adamkiewicz). Beilstein ajoute : Si l'on verse dans une solution de peptone pure un peu de soude caustique, puis 1-2 gouttes d'une solution de sulfate de cuivre diluée, presque incolore, il se produit une coloration rose pâle, nette; tandis que la solution devient violette lorsqu'elle contient en outre des albuminoïdes, et bleu pur si elle renferme des albuminoïdes seuls. Il faut éviter dans cette réaction tout excès de sulfate de cuivre.

Voici quelques détails sur l'aspect des précipités, tels que je les ai obtenus avec de la peptone du commerce. Elle donne dans l'eau une solution légèrement opalescente, qui s'éclaircit par l'addition d'acide acétique; si l'on traite alors par le ferrocyanure de potassium, il se produit un léger trouble blanc, ce qui indiquerait que la substance renferme encore un peu d'albuminoïdes imparfaitement peptonisés. Une goutte de potasse ajoutée à la solution opalescente la rend aussi tout à fait claire. Une goutte d'acide chlorhydrique très dilué agit de même; je me suis servi de cette solution acidulée pour les réactions suivantes :

Par l'*iodure de potassium iodé :* précipité brun, grumeleux.

(¹) *Handbuch der organ. Chemie,* 1re édit., p. 2105.

Par l'*acide phosphomolybdique :* précipité jaune pâle.

Par l'*iodure double de mercure et de potassium :* précipité blanc, caillebotté.

Par le *tétrachlorure de platine :* précipité jaune ocracé.

Par l'*acide picrique :* précipité jaune vif, un peu verdâtre (¹).

La réaction par l'iode a tout à fait la même allure qu'avec les alcaloïdes (²). Beaucoup d'alcaloïdes à l'état de base — la colchicine, par exemple — ne précipitent point par l'iode, tandis que leurs sels sont précipités. De même, la solution de peptone traitée par une quantité modérée d'iodure de potassium iodé prend une couleur orangée et ne présente qu'un léger trouble; il suffit d'aciduler légèrement pour voir apparaître, comme avec les sels d'alcaloïdes, un précipité brun orangé abondant.

De tels précipités par l'iode ne se produisent pas avec toutes les matières protéiques. Le protoplasme, en particulier, et le noyau

---

(¹) En acidulant au moyen d'une goutte d'acide chlorhydrique la solution aqueuse fraîchement préparée de peptone et en traitant par le perchlorure de fer et le ferricyanure de potassium, j'ai constaté qu'il se forme, après quelques instants, un précipité de bleu de Prusse, ainsi que Brieger (*Microbes, ptomaïnes et maladies*. Traduction française, 1887, p 185) l'a déjà observé. Comme ma peptone n'était certainement pas d'une pureté absolue, je ne mentionne le fait que pour mettre en garde contre cette réaction, indiquée jadis à tort comme caractéristique des ptomaïnes. Elle a déjà été signalée pour quelques alcaloïdes et diverses bases artificielles (ARM. GAUTIER, *Ptomaïnes et leucomaïnes*, p. 17); il est intéressant de savoir qu'elle peut se présenter aussi dans la peptone du commerce. — J'ai eu soin de m'assurer que le perchlorure et le ferricyanure employés ne donnent point naissance par eux-mêmes à du bleu de Prusse, au moins pendant les premières heures.

On sait, par les recherches de Brieger (*Op. cit.*, 1887, p. 27), que la peptone est souvent accompagnée d'une substance toxique, la *peptotoxine*, qui précipite par les réactifs généraux des alcaloïdes et forme du bleu de Prusse par le ferricyanure de potassium et le perchlorure de fer. Peut-être joue-t-elle un rôle dans la production de bleu de Prusse que j'ai observée.

(²) Nous avons déjà dit (ERRERA, MAISTRIAU et CLAUTRIAU, *Premières recherches sur la localisation et la signification des alcaloïdes*, pp. 6-7 du tiré à part) que certaines amines (diméthylamine, par exemple) et certains glycosides (vincétoxine, par exemple) précipitent aussi par l'iode comme les alcaloïdes.

des cellules ne se colorent d'ordinaire qu'en jaune ou en jaune brun, sans précipitation. Cependant, comme on le verra par la suite, le protoplasme retient dans certains cas (*Mucor*), à l'intérieur de ses mailles, des substances protéiques qui, sans être des peptones, précipitent comme elles en brun orangé par l'iode et pourraient ainsi être confondues également avec des alcaloïdes.

L'acide phosphomolybdique (¹), l'iodure double de mercure et de potassium, le tétrachlorure de platine, l'acide phosphotungstique en solution très acidifiée précipitent non seulement les peptones, mais toutes les matières protéiques (²) et peuvent donc, moins encore que l'iode, servir à caractériser exclusivement les alcaloïdes. Enfin, la plupart des matières protéiques, sinon toutes, donnent, comme les sels des alcaloïdes, des précipités par l'iodure double de potassium et de bismuth ainsi que par le cyanure double de platine et de potassium.

Tous ces faits mettent suffisamment en évidence l'analogie qui existe, pour les réactifs généraux, entre les substances protéiques et les alcaloïdes. C'est qu'en effet, suivant un mot expressif de M. Armand Gautier (*in litt.*), les peptones ne sont elles-mêmes que des alcaloïdes complexes à fonctions mixtes.

Il n'y a guère que deux réactions, nettes et colorées, appartenant aux peptones et à la plupart des matières protéiques, qui ne se retrouvent point chez les alcaloïdes : ce sont celle de Millon (par le nitrate mercuroso-mercurique) et celle de Piotrowski (par le sulfate de cuivre et la soude ou la potasse caustiques).

Le réactif de Millon donne dans les solutions de peptones un précipité blanc abondant qui rougit après un certain temps, notamment si l'on chauffe. J'ai fait cette réaction non seulement sur la peptone dissoute, mais encore au moyen de fragments de

---

(¹) L'acide phosphomolybdique précipite aussi des amides et les sels ammoniacaux. (Dragendorff, *Qualitative und quantitative Analyse von Pflanzen und Pflanzentheilen*, 1882, p. 52.)

(²) Frank Schwarz, *Die morphologische und chemische Zusammensetzung des Protoplasmas.* (Cohn's Beitraege, V, 1, 1887, p. 192.)

peptone sèche, déposés sur une lame de verre et examinés au microscope : les fragments deviennent granuleux, puis jaunâtres, puis roses et, au bout de deux à trois minutes, se colorent en beau rouge. Dans certaines conditions, on les voit se changer ensuite en une sorte de tissu artificiel très remarquable, sur la genèse duquel il n'y a pas lieu d'insister ici. Après une heure environ, les fragments de peptone sont dissous par le réactif en formant sur la lame autant de flaques rouge vif.

Malheureusement, le réactif de Millon n'est rien moins que spécial aux substances albuminoïdes. Il colore en rouge un assez grand nombre de corps aromatiques plus simples : phénol, vanilline, tyrosine, etc. (¹), et, grâce à l'acide nitrique qu'il renferme, il peut donner aussi des réactions colorées avec certains alcaloïdes : jaune pour la colchicine, rose pour la brucine, etc.

La réaction de Piotrowski a été employée par Sachs, dès 1859, pour la recherche microchimique des albuminoïdes. La solution de peptone dont je me suis servi, additionnée d'une *trace* de sulfate ou d'acétate de cuivre et d'un excès de potasse, se colore en rose pâle. Si l'on met une quantité un peu plus considérable de sel de cuivre, la coloration est rose mauve; avec une quantité plus grande encore, elle est d'un violet foncé. Dans certaines cellules, j'ai vu cette réaction se manifester avec une vive intensité. D'autres fois, pour les peptones par exemple, je n'ai obtenu par voie microchimique qu'une teinte mauve pâle, assez difficile à saisir. Il faut en tous cas examiner attentivement la nuance produite et ne pas oublier que les sucres, traités à froid par les sels de cuivre et la potasse, donnent une solution bleu foncé.

A ces deux réactions, on pourrait en joindre une troisième. Si l'on dissout des peptones ou des albuminoïdes dans l'acide acétique fort et que l'on ajoute quelques gouttes d'acide sulfurique concentré, la solution se colore en violet (réaction d'Adamkiewicz). Dans mes essais avec la peptone, ce n'est qu'après plusieurs heures

---

(¹) Cf. KRASSER, *Unters. üb. das Vorkommen von Eiweiss in der pflanzlichen Zellhaut.* (SITZGSB. WIEN. AKAD., Bd XCIV, 1886.)

qu'une coloration rose violacé s'est manifestée, et il a fallu quelques jours pour que la teinte passât au violet intense. Microchimiquement, cette réaction ne m'a pas fourni jusqu'ici de résultats satisfaisants. D'ailleurs, plusieurs alcaloïdes se colorent par l'acide sulfurique en rouge, en violet ou en bleu et pourraient donner lieu à une confusion avec la réaction d'Adamkiewicz.

La même critique s'applique naturellement à la réaction de Raspail (coloration rouge par le sucre et l'acide sulfurique), qui est souvent difficile à obtenir par voie microchimique et se retrouve chez plusieurs alcaloïdes.

Si les réactions colorées n'offrent ainsi que des ressources assez limitées pour la distinction des alcaloïdes et des matières protéiques, les caractères de solubilité présentent des différences plus importantes et peuvent être employés avec succès sous le microscope. Le fait fondamental est celui-ci : *les sels acides des alcaloïdes sont solubles dans l'alcool*, — c'est, on le sait, sur cette propriété que repose la méthode de Stas, — *tandis que les matières protéiques y sont presque toutes insolubles.*

Parmi les substances protéiques, les principales exceptions à cette règle nous sont offertes par les matières du gluten des céréales, distinguées par Ritthausen : gluten-fibrine, gliadine et mucédine. Ces trois corps sont indiqués comme plus solubles dans l'alcool que dans l'eau : la mucédine et la gliadine sont solubles dans l'alcool froid à 60-70° centésimaux, la gluten-fibrine est encore sensiblement soluble dans l'alcool froid à 80-90° centésimaux. Les deux premières, toutefois, sont insolubles dans l'alcool absolu et la gluten-fibrine y est à peine soluble (¹). Zander a aussi signalé une substance protéique soluble dans l'esprit de vin (²). Quant aux peptones, elles sont insolubles dans l'alcool absolu et précipitées de leurs dissolutions aqueuses quand on y ajoute au moins trois

---

(¹) DRAGENDORFF, *Qualit. u. quantit. Analyse*, 1882, p. 246, note 1.

(²) *Chemisches über die Samen des Xanthium strumarium.* Diss., Dorpat, 1881 (cité par Dragendorff).

volumes d'alcool (1). Cependant, comme l'indique Hoppe-Seyler (2) et comme je puis le confirmer, la précipitation n'a pas lieu lorsqu'il y a en présence de l'acide chlorhydrique libre.

En ce qui concerne les alcaloïdes, il faut noter qu'il s'agit des *sels acides* et non des *bases* elles-mêmes. Celles-ci, il est vrai, se dissolvent également, pour la plupart, dans l'alcool absolu; mais quelques unes font exception : telle la strychnine, complètement insoluble dans ce véhicule (3).

Ces explications préliminaires justifieront, je pense, la marche que j'ai suivie dans mes essais microchimiques. J'ai fait surtout usage de trois dissolvants :

1° L'*alcool absolu*. Celui dont je me suis servi a une densité de 0.796 à 20° C., ce qui représente 99 °/₀ d'alcool absolu.

2° L'alcool acidulé par l'acide tartrique, que l'on emploie pour l'extraction des alcaloïdes d'après la méthode de Stas. Les proportions qui m'ont paru les plus convenables sont :

Acide tartrique cristallisé.	1 gr.
Alcool absolu	20 c. c.

Je désignerai cette solution par le terme abrégé d'*alcool tartrique*.

3° L'alcool acidulé par l'acide chlorhydrique :

Alcool absolu	95 c. c.
Eau distillée	5 c. c.
Acide chlorhydrique (densité 1.12).	0.2 c. c.

Par abréviation, j'appellerai ce mélange *alcool chlorhydrique* (4).

---

(1) SCHWARZ, *Loc. cit.*, p. 194.

(2) *Handbuch der physiol. und pathol. chem. Analyse*, 4te Aufl., p. 248.

(3) MERCK in HUSEMANN-HILGER, *Pflanzenstoffe*, p. 1256; FRESENIUS, *Anal. chimique qualitative*, trad. Forthomme, 1875, p. 463.

(4) Cette solution m'a été indiquée par mon éminent collègue M. Armand

Comme type de matière protéique, j'ai choisi pour mes expériences la *peptone;* comme type d'alcaloïde, la *colchicine*, dont la localisation et les caractères microchimiques ont été étudiés dans un travail antérieur (¹).

§ 2. — ESSAIS MICROCHIMIQUES SUR LA COLCHICINE.

La colchicine solide, à l'état de base, est facilement soluble dans l'alcool absolu, l'alcool tartrique et l'alcool chlorhydrique. La solution dans ce dernier liquide a la nuance jaune vif que les acides minéraux forts donnent à la colchicine.

D'après ce qui a été dit plus haut, il est important de s'assurer que la colchicine se trouve en *solution acide dans le suc cellulaire.* Le fait a déjà été signalé par nous (²), mais je l'ai vérifié depuis d'une façon plus approfondie.

Les cellules épidermiques du bulbe qui donnent avec intensité toutes les réactions de la colchicine présentent une couche pariétale de protoplasme avec un noyau, et une grande vacuole centrale dont le contenu aqueux a une légère nuance jaune verdâtre, analogue à la coloration de la solution aqueuse de colchicine. Si l'on plasmolyse ces cellules par un mélange de $^1/_3$ de glycérine et $^2/_3$ d'eau, on voit la vacuole se contracter : le suc se concentre de plus en plus et sa teinte jaune devient plus apparente. En faisant affluer la glycérine assez brusquement, il arrive souvent que le protoplasme soit tué sur place et que la paroi de la vacuole (tonoplaste de de Vries) se plasmolyse seule. Si l'on ajoute alors au bord

---

Gautier, professeur de chimie à la Faculté de médecine de Paris, que j'avais consulté sur les réactions à essayer pour la distinction microchimique des peptones et des alcaloïdes. Je suis heureux de lui renouveler ici l'expression de mes remerciements.

(¹) ERRERA, MAISTRIAU et CLAUTRIAU, *Premières recherches sur la localisation et la signification des alcaloïdes.* (JOURN. DE LA SOC. ROY. DES SC. MÉD. ET NAT., Bruxelles, 1887. Mémoire reproduit dans les *Annales de la Société belge de microscopie,* t. XII, p. 1.) — Les citations se rapportent au tiré à part.

(²) *Loc. cit.*, pp. 7 et 9 du tiré à part.

de la préparation un peu d'acide sulfurique, on voit, de la façon la plus nette, le contenu de la vacuole se colorer seul en jaune vif, tout le reste demeurant absolument incolore. Ce n'est qu'après plusieurs minutes que la colchicine commence à sortir de la vacuole et à colorer le protoplasme ambiant et le noyau.

Pour démontrer la réaction acide du suc, on enlève des lambeaux d'épiderme du bulbe au moyen d'un rasoir soigneusement lavé à l'alcool et à l'eau distillée, ou, mieux encore, on arrache ces lambeaux au moyen d'une pincette de façon que la surface mise à nu n'ait été en contact avec aucun objet étranger. Si l'on met alors le lambeau épidermique sur un morceau de papier bleu de tournesol, sensible, il se forme chaque fois, immédiatement, une tache rose bien marquée. Même résultat si l'on dépose le lambeau d'épiderme à la surface d'une solution aqueuse, violette, de tournesol (¹) : le tissu s'entoure aussitôt d'une auréole rose, due au suc des cellules qui ont été blessées par la préparation. Au bout de quelques instants, les cellules intactes commencent à mourir : elles laissent pénétrer un peu de la solution et leur suc cellulaire prend aussi une coloration rosée. Le contraste est frappant lorsque l'on a côte à côte, sous le microscope, des cellules intactes et des cellules entamées, privées de leur suc : celles-ci ont la teinte violette du réactif, celles-là sont nettement roses. Quant au protoplasme et au noyau, on aperçoit sans peine dans les cellules entamées et privées de suc qu'ils se sont colorés en violet bleu, indiquant une réaction alcaline faible, mais incontestable. Dans les cellules intactes et colorées en rose par le réactif, le noyau et le protoplasme sont plus violets, moins bleutés, quelquefois même un peu rosés, évidem-

---

(¹) Ma solution était préparée suivant la recette que recommande Strasburger (*Praktikum*, 2ᵉ édit., p. 644) : « De deux solutions aqueuses de tournesol, l'une est additionnée d'acide nitrique jusqu'au moment précis où elle devient rouge. Un mélange de la solution rouge et de la bleue donne une solution violette, dont les changements de nuance indiquent avec une grande sensibilité la réaction acide ou alcaline du suc cellulaire » Grâce sans doute à la trace d'acide nitrique qu'elle renferme, cette solution a l'avantage de pénétrer dans les cellules, en tuant peu à peu leur protoplasme.

ment parce qu'ils absorbent une certaine quantité du suc cellulaire très acide pendant le lent décès de la cellule.

L'ensemble des observations sur les cellules épidermiques du bulbe établit donc d'une manière certaine : 1° que la colchicine y a son siège exclusif dans le *suc cellulaire* et 2° que ce suc est *franchement acide;* le protoplasme et le noyau, au contraire, sont légèrement alcalins.

Ce point étant acquis, un certain nombre de lambeaux épidermiques du bulbe, assez épais pour contenir sûrement des cellules épidermiques intactes, ont été immergés dans les liquides suivants :

a) Eau distillée;
b) Alcool absolu;
c) Alcool tartrique;
d) Alcool chlorhydrique.

Les essais se font simplement dans de petits verres de montre recouverts chacun d'un verre de montre plus grand. On tapisse la surface interne du grand verre avec un morceau de papier à filtrer bien imbibé du liquide en expérience, afin de réduire autant que possible l'évaporation. Si l'expérience doit se prolonger, on recouvre encore le tout d'une cloche de petites dimensions.

On prélève de temps en temps des fragments de tissu et on les traite par l'acide sulfurique à 25 °/₀, qui colore la colchicine en jaune vif. Voici, par exemple, le détail d'une série d'expériences.

Après vingt minutes (*a*, *b*, *c*, *d* représentent les expériences énumérées ci-dessus) :

a) Les cellules épidermiques intactes donnent la réaction de colchicine sans aucune diminution.

b) Les cellules épidermiques intactes prennent une légère teinte jaune par l'acide sulfurique.

c) Quelques-unes seulement des cellules intactes prennent encore une teinte jaune à peine visible.

d) Plus du tout de réaction de colchicine.

Après trente minutes :

a) Réaction sans diminution.

b) Légère teinte jaune.
c) Plus de réaction.
d) Plus de réaction.

Après une heure :
a) Réaction sans diminution.
b) Teinte jaune à peine visible.
c) et *d*) Plus de réaction.

Après une heure et demie :
b) Teinte jaunâtre douteuse.

Après trois heures :
b) Plus de réaction.

Ces expériences ont été répétées plusieurs fois, toujours avec les mêmes résultats. Dans l'eau distillée, les cellules restent vivantes et leur protoplasme s'oppose à l'exosmose de la colchicine. Dans les divers alcools, le protoplasme est tué et l'alcaloïde est extrait peu à peu. Au point de vue de la vitesse d'extraction, les trois alcools se sont toujours rangés dans le même ordre descendant :

Alcool chlorhydrique,
Alcool tartrique,
Alcool absolu.

On voit que l'acidité de l'alcool intervient d'une façon utile, même lorsque l'alcaloïde se trouve déjà dans un milieu acide.

Des expériences faites en écrasant des lambeaux d'épiderme dans les dissolvants ont donné des résultats semblables, si ce n'est qu'alors l'eau suffit à dissoudre et à enlever l'alcaloïde, comme c'était à prévoir.

Les réactions spéciales indiquées plus haut pour les matières protéiques n'ont donné sur les cellules à colchicine que des résultats négatifs. C'est ainsi que l'acétate de cuivre et la potasse (à froid) ne produisent pas de coloration rose ou violette. Il se forme seulement un très léger précipité bleu pâle d'hydrate de cuivre dans les cellules épidermiques.

§ 3. — ESSAIS MICROCHIMIQUES SUR LA PEPTONE.

Des fragments de peptone sèche de viande (de Schuchardt) déposés dans l'alcool absolu, l'alcool tartrique, l'alcool chlorhydrique conservent leurs angles vifs et ne présentent pas trace de dissolution, même après plusieurs heures. Seul l'alcool chlorhydrique, en s'évaporant à la longue et en devenant ainsi de plus en plus aqueux, finit par attaquer un peu les fragments.

Quant à la localisation microchimique des peptones, comme elle n'a jamais été tentée à ma connaissance, il a fallu user d'un détour pour me procurer des cellules dont je fusse sûr qu'elles contiennent des peptones : j'ai donc fait absorber des peptones à des cellules de Spirogyre. L'expérience s'exécute sans grande difficulté. J'ai fait usage d'une espèce commune, à grandes cellules, le *Spirogyra crassa*.

Ces cellules, à l'état frais, ne donnent nulle part de réaction d'alcaloïdes ou de peptones :

Par l'*iodure de potassium iodé*, seul ou avec l'acide acétique, il n'y a ni précipité ni coloration du suc cellulaire; l'utricule protoplasmique se colore à peine en jaune, les bandes de chlorophylle en jaune brunâtre, l'amidon, naturellement, en violet noir.

Par l'*acide phosphomolybdique :* aucun précipité, même si l'on ajoute un peu d'iodure de potassium iodé pour tuer instantanément les cellules et faire bien pénétrer le réactif. (Par parenthèse, ce mélange fixe très bien le protoplasme, le noyau et les bandes de chlorophylle.)

Les cellules traitées par le *réactif de Millon* et chauffées légèrement ne présentent qu'une faible teinte jaune du protoplasme.

Par l'*acétate de cuivre et la potasse* (à froid), aucune coloration (1).

---

(1) Ces résultats négatifs ne sont pas très favorables à l'idée de Loew et Bokorny, d'après laquelle il existerait des albuminoïdes en solution dans le suc cellulaire des Spirogyres.

Des filaments de cette Spirogyre ont été déposés dans des solutions aqueuses concentrées de peptone, les uns à l'état vivant, les autres après avoir été tués par échauffement dans l'eau à 80° C. environ.

En prélevant au bout d'une heure des échantillons de chacune des deux portions de filaments, en les passant rapidement dans l'eau pour les laver et en les traitant par l'iodure de potassium iodé, on constate que la peptone n'a pas encore pénétré dans les filaments vivants; mais la gaine gélatineuse qui les entoure et qui ne se colore point par l'iode à l'état normal s'est fortement imprégnée de peptone et se colore en brun, avec léger précipité. C'est même un bon moyen de rendre apparente cette gaine, d'ordinaire si difficile à voir.

Les filaments tués par la chaleur n'ont pas de gaine gélatineuse: elle s'est dissoute dans l'eau chaude. Ils ne présentent pas non plus de réaction de peptone dans les cellules. En revanche, une certaine quantité d'amidon des bandes chlorophylliennes s'est dissoute à chaud en formant un empois à l'intérieur des cellules, sans en sortir. Le contenu de ces cellules se colore fortement en bleu violet par l'iode.

Après dix-huit heures de séjour dans la solution de peptone, les résultats sont tout différents.

Les filaments qui étaient vivants ont maintenant leur protoplasme irrégulièrement contracté et plus ou moins désorganisé. Si on les lave rapidement à l'eau distillée et qu'on les traite par l'iodure de potassium iodé ou par l'acide phosphomolybdique, on s'assure d'une façon positive que de la peptone a pénétré dans les cellules et s'y trouve en solution dans l'espace vide entre le protoplasme contracté et la membrane cellulaire, et même, dans certains cas, dans la vacuole centrale qu'environne le protoplasme contracté. L'iodure iodé produit dans les cellules un précipité finement granuleux, brun orangé; l'acide phosphomolybdique, un précipité finement granuleux, jaunâtre, qui remplit la cellule. L'acide phosphomolybdique donne ici des résultats plus nets que l'iodure de potassium iodé, parce qu'il ne colore pas sensiblement les membranes cellulaires, tandis que l'iode les jaunit, par l'effet de la peptone qui les imprègne. (La membrane des filaments frais ne jaunit pas sensiblement par l'iode.) La gaine gélatineuse est conservée et continue à présenter une coloration brune et un léger précipité de peptones. — Il arrive souvent que l'une ou l'autre cellule d'un filament de Spirogyre soit morte et complètement privée de contenu dès l'origine de l'expérience : il est remarquable que la peptone pénètre beaucoup moins abondamment dans ces cellules que dans les cellules primitivement vivantes.

Les filaments tués par la chaleur présentent, après dix-huit heures, un protoplasme d'aspect normal, non plasmolysé, précisément parce qu'il a été tué brusquement. On trouve une certaine quantité de peptone en solution dans les cellules, mais la réaction est moins marquée que dans les cellules primitivement vivantes, dont le protoplasme rétracté laisse mieux apercevoir le précipité dans le vide qui existe entre lui et la membrane. De plus, il semble que l'empois d'amidon formé dans les cellules échaudées rende la pénétration de la peptone plus difficile.

Il résulte de ces essais préliminaires que la pénétration de la peptone s'obtient le mieux avec les filaments primitivement vivants. C'est d'eux seuls que je m'occuperai dans la suite. De tels filaments, après dix-huit heures de séjour dans la solution de peptone, sont passés rapidement à l'eau distillée et déposés de la même manière que pour le *Colchicum*, dans les liquides suivants :

a) Eau distillée;
b) Alcool absolu :
c) Alcool tartrique ;
d) Alcool chlorhydrique.

Après qu'ils ont séjourné trois heures et demie, c'est-à-dire plus longtemps qu'il n'a fallu pour l'extraction complète de la colchicine (voir plus haut), les filaments sont examinés de nouveau :

a) La quantité de peptone a diminué dans les cellules, mais il en reste encore un peu : l'iodure de potassium iodé y provoque un précipité très léger, l'acide phosphomolybdique un précipité plus net. Comme tous les grains opaques, ces précipités se voient surtout sur un fond noir, en interposant, par exemple, la main entre le miroir et la platine du microscope. Par ce procédé, la moindre trace de précipité s'aperçoit encore clairement.

b) Examinés dans l'alcool où ils se trouvent, ces filaments se montrent opaques, remplis d'un précipité abondant, blanc, granuleux, qui a les réactions des peptones. Par l'iodure de potassium iodé, par l'acide phosphomolybdique, la réaction, autant qu'on en peut juger, est tout aussi forte qu'avant l'immersion dans l'alcool : les cellules sont restées bourrées de peptone.

Les gaines gélatineuses des filaments sont conservées.

c) Vus dans l'alcool tartrique, les filaments sont opaques, avec un précipité blanc, abondant, quoique un peu moins peut-être que dans *b*). Les gaines gélatineuses sont conservées.

Comme pour *b*), le précipité disparaît dans l'eau distillée. L'acide phosphomolybdique fait réapparaître dans chaque cellule un précipité abondant, jaunâtre, un peu moins abondant toutefois que dans *b*).

L'iodure de potassium iodé donne un beau précipité granuleux, brun orangé, plus manifeste que dans *a*) et *b*), plus manifeste même que dans les filaments primitifs. Cela tient à l'acide tartrique qui imprègne encore les cellules, les acides étant toujours favorables à la précipitation des peptones par l'iode, ainsi qu'il a été exposé au § 1^er^.

d) Vus dans l'alcool chlorhydrique, les filaments paraissent bien moins opaques que ceux de *c*) et surtout de *b*), plus translucides, opalescents, avec beaucoup moins de précipité. Cela concorde avec ce qui a été dit au § 1^er^ : l'alcool acidulé par l'acide chlorhydrique ne précipite pas bien les solutions de peptones. Ce qui le prouve aussi, c'est que l'alcool chlorhydrique, en s'évaporant, dépose ici sur les bords du verre de montre un peu de peptone — ce qui n'a pas lieu pour *b*) et *c*).

Les réactions par l'acide phosphomolybdique et par l'iodure de potassium iodé sont manifestement moins fortes qu'au début. Cependant, par ce dernier réactif, le précipité, quoiqu'il ne soit pas très abondant, est bien net, encore une fois parce qu'il y a de l'acide en présence.

Si l'on examine de nouveau les filaments, après qu'ils sont restés environ vingt-quatre heures dans leurs liquides respectifs, on constate que dans l'alcool absolu seul la quantité de peptone n'a pas diminué; dans les autres liquides, la diminution s'est accentuée; partout, cependant, il reste encore plus ou moins de peptone dans les cellules. Dans l'eau distillée, on remarque que beaucoup de cellules ont conservé leur tonoplaste vivant : contracté à la suite du séjour dans la solution de peptone, il s'est maintenant dilaté de nouveau dans l'eau, en refoulant devant lui le protoplasme pariétal mort et les bandes de chlorophylle, de sorte que la cellule a repris un aspect plus ou moins normal. Je n'ai pas trouvé avec certitude de peptone dans le suc cellulaire des tonoplastes demeurés vivants.

En somme, la conclusion des essais sur les Spirogyres *peptonées* (si l'on nous permet ce néologisme), c'est que pour la précipitation intracellulaire des peptones, les trois alcools se rangent dans l'ordre descendant :

Alcool absolu,
Alcool tartrique,
Alcool chlorhydrique.

La gradation est précisément inverse de celle qui se rapporte à l'extraction de la colchicine. Il convient d'ajouter que l'alcool tartrique a sur l'alcool absolu l'avantage de donner lieu ensuite à des réactions mieux caractérisées dans les cellules, surtout pour l'iode.

Chauffées légèrement dans le réactif de Millon, les Spirogyres peptonées se colorent en rouge-brique. Par l'acétate de cuivre et la potasse à froid, elles présentent dans leurs cellules une coloration mauve pâle. Comme on l'a vu, les Spirogyres fraîches ne donnent point ces réactions.

§ 4. — Essais microchimiques sur les zygospores de Mucor.

Des observations faites antérieurement m'avaient appris qu'il existe dans les zygospores mûres du *Mucor Mucedo* une substance qui précipite par les réactifs généraux des alcaloïdes. Les procédés microchimiques que je viens d'exposer devaient permettre de décider s'il s'agit là d'un alcaloïde ou d'une matière protéique. C'est cette dernière alternative qui s'est vérifiée.

Les essais qui ont conduit à cette conclusion me paraissent mériter d'être rapportés en détail, à la fois parce qu'ils servent de contrôle à ce qui a été indiqué dans les paragraphes précédents, et parce qu'ils jettent quelque lumière sur la nature chimique des réserves contenues dans la zygospore.

Ces études ne m'ont été possibles qu'en ayant à ma disposition des centaines de zygospores. Elles provenaient toutes d'un crottin de cheval, cultivé sous cloche pendant plusieurs mois, mine inépuisable de zygospores du *Mucor Mucedo*. Pour les extraire sans trop de peine, je recommanderai le procédé suivant : On dépose une parcelle de crottin sur une lame de verre assez grande, placée elle-même sur une feuille de papier blanc. On se fixe dans l'œil une loupe d'horloger (¹) de façon à avoir les mains libres et l'on dissocie le crottin au moyen de deux aiguilles. Les zygospores se voient comme autant de points noirs sur le fond blanc et peuvent être recueillies en grand nombre pour servir aux expériences ultérieures.

A la maturité, la zygospore se compose d'une exospore noire, opaque, d'une endospore incolore et transparente, et d'un contenu. Si, au moyen d'une aiguille, on presse avec précaution sur la zygospore, pendant qu'on l'observe au microscope à un grossissement moyen (oculaire 1, objectif 4, Hartnack), il est facile de faire éclater l'exospore et de mettre en liberté l'endospore et le contenu, tous deux intacts. C'est ce que j'appellerai dans la suite une *zygospore pelée :* toutes mes réactions microchimiques ont été faites sur de telles zygospores.

L'exospore détachée présente des dessins clairs sur le fond noir : ce sont très probablement des parties plus minces, assez analogues à celles que l'on a figurées pour le sporange du *Pilobolus cristallinus*, mais moins régulières et sinueuses au lieu d'être rec-

---

(¹) Dans la plupart des cas, une bonne loupe d'horloger me semble remplacer avantageusement le microscope simple de dissection.

tilignes. Deux de ces lignes décrivent un contour circulaire sinueux, chacune autour de l'un des deux ombilics, où s'attachaient les bras copulateurs. Les autres lignes partent de celles-là et forment sur la surface sphérique des polygones curvilignes à lignes sinueuses. Le dessin n'est visible qu'après que l'on a enlevé l'exospore du reste de la zygospore. Il s'agit bien là d'une structure normale, et non de fissures produites par les aiguilles : on a beau écraser fortement un lambeau d'exospore, on peut y faire apparaître des déchirures, mais jamais de lignes claires semblables à celles que je viens d'indiquer.

Quant au contenu, on voit dans les zygospores pelées qu'il consiste en une couche pariétale, modérément épaisse, de protoplasme incolore et hyalin, enveloppant une grosse goutte centrale d'huile également incolore, transparente, très réfringente. L'acide osmique pénètre à travers l'endospore et brunit l'huile après peu de minutes. Si l'on écrase une zygospore, l'huile forme au sein de l'eau une grosse goutte liquide, qui, elle, se colore immédiatement en brun foncé par l'acide osmique. On s'assure aussi par des essais faits sur le porte-objet que cette huile est insoluble dans l'alcool froid, soluble dans l'alcool chaud et dans l'éther.

L'*iodure de potassium iodé* peu concentré (à 1/450 environ (¹) ne pénètre que très lentement dans la zygospore pelée. Après quelque temps, l'endospore se colore en jaune pâle, le protoplasme et l'huile restant d'abord incolores. Enfin, au bout d'une vingtaine de minutes, l'huile jaunit légèrement ; un précipité granuleux jaune se produit dans le protoplasme, s'y étend de proche en proche et l'envahit bientôt tout entier. Sa teinte passe ensuite à l'orangé, au brun orangé, au brun-kermès, rappelant les précipités d'alcaloïdes ou de certaines matières protéiques. Ces phénomènes de coloration se produisent d'emblée, si l'on emploie une

---

(¹) Eau distillée 45
Iodure de potassium cristallisé 0.3
Iode cristallisé 0.1
(Cf. Errera, *Glycogène chez les Basidiomycètes.*)

solution d'iode concentrée; le protoplasme devient même brun rouge foncé.

Par l'action d'une chaleur modérée, la coloration brune du protoplasme ne pâlit nullement : il ne s'agit donc pas de glycogène; — en même temps, la goutte d'huile se creuse d'un grand nombre de bulles et devient comme écumeuse. La matière colorée en brun par l'iode ne se dissout pas non plus dans l'eau, comme le glycogène, quand on écrase et fait éclater l'endospore. On s'assure alors que la coloration siège dans les granules du précipité formé, et non dans une substance amorphe.

Par l'*acide phosphomolybdique*, le protoplasme se trouble après avoir résisté assez longtemps. Si l'on écrase dans ce réactif, le protoplasme expulsé donne immédiatement un précipité jaune pâle, abondant.

Par l'*iodure double de mercure et de potassium* acidulé d'acide chlorhydrique, le protoplasme se remplit d'un abondant précipité blanc à peine jaunâtre.

Il s'agissait, comme je l'ai dit, de déterminer si la matière précipitée par ces réactifs appartient au groupe des alcaloïdes ou au groupe protéique. Des zygospores pelées ont donc été mises en macération dans l'alcool absolu, l'alcool tartrique et l'alcool chlorhydrique, pendant des durées qui ont varié de quelques minutes à plusieurs jours. Les expériences se faisaient soit dans des verres de montre recouverts, soit dans des tubes à réactifs, bouchés, de façon à éviter l'évaporation.

Après l'action de l'*alcool absolu* ou de l'*alcool tartrique*, le protoplasme a conservé son aspect, il est homogène et hyalin; traité par l'iodure iodé, il donne encore, comme auparavant, le précipité jaune, puis orangé, puis brun orangé et enfin brun-kermès; par l'acide phosphomolybdique, il donne le précipité jaune pâle. Ces précipités sont donc bien dus à une matière protéique et non à un alcaloïde.

L'action de l'*alcool chlorhydrique* présente certaines particularités. Si on n'y laisse macérer la zygospore que peu de minutes — un quart d'heure au plus — et que l'on traite ensuite par le réactif iodé, le précipité se forme encore. Mais si la macération a duré davantage, une ou plusieurs heures par exemple, le contenu protoplasmique a subi des modifications plus profondes : le protoplasme est resté clair, hyalin, mais au lieu de tapisser l'endospore, il s'est contracté autour de la goutte d'huile. Traité par l'iodure de potassium iodé, il se colore en jaune, puis en orange, puis en brun orangé, puis en brun rouge très foncé mais sans donner le moindre précipité. En revanche, il se forme de très petites quantités de précipité kermès à la face interne de l'endospore, sans contact par conséquent avec le protoplasme contracté. Il est évident qu'une minime quantité seulement de la matière protéique précipitable par l'iode s'est conservée à la face interne de l'endospore; le reste a été soit enlevé du protoplasme par l'alcool chlorhydrique, soit transformé en une matière qui ne précipite plus.

C'est à l'acide chlorhydrique du dissolvant employé qu'il faut attribuer cette modification dans le protoplasme. On a vu, en effet, que l'alcool absolu ne produit rien de semblable; une macération dans l'eau, pas davantage. Au contraire, un séjour dans une solution aqueuse d'acide chlorhydrique à 2 °/₀ donne lieu à un effet analogue, le protoplasme prenant ensuite par l'iode une coloration brune, limitée à l'utricule primordial, sans présenter de précipité.

Nous avons conclu de ces essais que la matière précipitable est insoluble dans l'alcool et que, par conséquent, ce n'est pas un alcaloïde. A la rigueur, un doute pourrait subsister. Ne seraient-ce pas l'épaisseur et le peu de perméabilité de l'endospore qui ont simplement empêché la substance précipitable d'être enlevée par l'alcool? Est-il bien certain que si elle était soluble, l'endospore n'eût pas empêché son extraction?

Pour lever cette difficulté, j'ai fait absorber à la zygospore un alcaloïde connu et je me suis assuré que celui-ci peut en être extrait ensuite par les dissolvants dont je me servais.

Des zygospores pelées, laissées pendant une vingtaine d'heures dans une solution aqueuse concentrée de *colchicine*, absorbent l'alcaloïde, et leur protoplasme devient vacuoleux. Lavées à l'eau, puis traitées par l'acide sulfurique à 25 °/₀, elles se colorent en beau jaune, comme les cellules épidermiques de *Colchicum autumnale*, ce qui n'a nullement lieu pour les zygospores fraîches. La coloration persiste longtemps; elle est strictement limitée au protoplasme; l'endospore et l'huile restent incolores.

Des zygospores ainsi imbibées de colchicine ont été déposées dans les liquides suivants :

a) Eau distillée;

b) Alcool absolu;

c) Alcool tartrique;

d) Alcool chlorhydrique.

Après trois heures, une zygospore de chaque catégorie est traitée par l'acide sulfurique à 25 °/₀ :

a) Plus de coloration jaune sensible (cela tient évidemment à ce que le protoplasme avait été tué par l'alcaloïde).

b) Coloration jaune pâle.

c) Coloration jaune pâle, à peine moins marquée que dans *b*).

d) Coloration jaune pâle, à peu près comme pour *c*).

On voit que la colchicine n'a encore été enlevée que partiellement par les trois alcools.

Après un jour, une zygospore de chaque sorte est de nouveau traitée par l'acide sulfurique à 25 °/₀ :

a) Plus trace de coloration jaune.

b) Coloration jaune à peine sensible, qui ne se remarque que par comparaison avec *a*).

c) Plus trace de coloration jaune.

d) Plus trace de coloration jaune.

L'alcaloïde a donc cette fois été extrait complètement par tous les dissolvants, sauf l'alcool absolu qui en a encore laissé une quantité très minime. Ces essais montrent d'une façon concluante que l'alcool et surtout l'alcool tartrique et l'alcool chlorhydrique conviennent bien pour l'extraction microchimique des alcaloïdes, même quand la membrane cellulaire est épaisse et peu perméable. La substance précipitable dans les zygospores est donc bien une matière protéique et non un alcaloïde, sans quoi elle ne résisterait pas d'une façon complète à l'alcool absolu et à l'alcool tartrique.

Notre conclusion est encore confirmée par les réactions spéciales aux matières protéiques.

Une zygospore mise dans le *réactif de Millon* et chauffée légèrement présente une belle coloration rouge de toute la zone protoplasmique. La coloration paraît siéger dans une matière liquide imbibant le protoplasme.

La réaction par les *sels de cuivre et la potasse* réussit admirablement. Lorsqu'on place pendant une demi-heure environ une zygospore pelée dans une solution modérément forte d'acétate ou de sulfate de cuivre, qu'on lave rapidement à l'eau distillée et qu'on traite par la potasse, à froid, la masse protoplasmique se colore nettement en mauve pâle, l'endospore devient bleuâtre, l'huile reste incolore. Si le sel de cuivre a été employé en solution concentrée ou si son action a été plus prolongée, on obtient, après lavage à l'eau et traitement par la potasse, une coloration violet intense, magnifique. Les deux teintes correspondent exactement à celles que j'ai obtenues macrochimiquement avec la solution de peptone. Après cette réaction, on constate à un fort grossissement que le protoplasme est formé d'un stroma translucide, un peu granuleux, imprégné d'une substance homogène, liquide : celle-ci seule s'est colorée en violet. Comme le stroma dépasse parfois en quelques points la matière homogène, la chose est parfaitement visible. En écrasant la zygospore, on voit la partie violette, liquide, diffuser dans le milieu ambiant, tandis qu'il reste une sorte d'utricule translucide, non coloré.

La réaction violette s'obtient encore très bien après macération de la zygospore dans l'alcool, l'alcool tartrique, l'alcool chlorhydrique à 2 °/₀, le séjour dans ces liquides pouvant même être prolongé pendant plus de deux jours. Un court séjour dans le chlorure de sodium à 10 °/₀ n'empêche pas non plus la réaction violette.

Ayant établi que la substance précipitable dans la zygospore par les réactifs généraux appartient bien au groupe protéique, il reste à essayer d'en préciser davantage la nature chimique.

Hoppe-Seyler a classé les substances protéiques (*latissimo sensu*) en deux grandes catégories : les *matières albuminoïdes* ou *protéines*, et les *protéides*, substances plus complexes encore, qui donnent, par leur dédoublement, des matières albuminoïdes à côté d'autres corps. Cette seconde catégorie comprend la matière colorante du sang, la chondrine, les nucléines, les plastines, etc. La première catégorie est subdivisée par Hoppe-Seyler en dix groupes (¹) : 1° les albumines ; 2° les globulines ; 3° les fibrines ; 4° la mucine ; 5° les albuminoïdes coagulés ; 6° la substance amyloïde ; 7° les acidalbumines ; 8° les albuminates ; 9° l'hémialbumose ou propeptone ; 10° les peptones.

Notre substance se rattache, comme on va le voir par tous ses caractères, aux *globulines* de Hoppe-Seyler. Des corps de ce groupe ont du reste été indiqués déjà dans les réserves de diverses graines phanérogamiques : sous la forme de vitelline dans les cristalloïdes de la noix de Para, dans les graines de Melon, etc., etc. ; sous la forme de myosine, d'après Vines, dans les graines de Lupin et de Pivoine (²). Il sera permis, pour la brièveté, de désigner dès à présent notre substance sous le nom de globuline.

Les globulines sont insolubles dans l'eau pure, mais se dissolvent facilement en présence de la plupart des sels alcalins : chlorure de sodium à 5-10 °/₀, phosphates bi- et tripotassique, etc.

Notre substance est, elle aussi, *insoluble dans l'eau*. Le protoplasme de la zygospore pelée et déposée dans l'eau distillée est tout à fait transparent et limpide ; aussitôt qu'on l'écrase, il se trouble et devient granuleux en arrivant au contact de l'eau. Le précipité appartient bien à la substance qui nous occupe : l'addition d'iodure de potassium iodé le colore en brun orangé ; en même temps, le précipité semble augmenter.

Il faut donc admettre que la précipitation de notre substance est empêchée dans le protoplasme vivant par suite de certaines condi-

---

(¹) *Handbuch der physiol. und pathol. chemischen Analyse*, 5ᵉ édit. (cité par Fr. Schwarz). — Les botanistes trouveront un bon résumé des caractères de ces différents groupes dans le travail récent de Fr. Schwarz, *Op. cit.*, pp. 194 et suiv.

(²) Cf. Schwarz, *Loc. cit.*

tions que le contact de l'eau distillée fait disparaître : il est naturel de songer tout d'abord à quelque sel que l'eau enlèverait. Schwarz et d'autres ont montré que le protoplasme vivant est très généralement alcalin, et il n'est pas invraisemblable que cette alcalinité soit due, au moins souvent, à du phosphate bipotassique (¹).

A ce point de vue, il était intéressant de connaître la réaction du protoplasme de la zygospore de *Mucor*. La phénolphtaléine en solution hydro-alcoolique ne m'a pas donné de résultats nets. Mais en déposant des zygospores pelées dans la solution de tournesol violette, préparée comme il a été dit plus haut (p. 197, note) et étendue d'un peu d'alcool bien neutre, on constate une *légère réaction alcaline* du protoplasme. L'addition d'alcool a pour but de tuer le protoplasme et de faciliter par là la pénétration du réactif. On peut aussi écraser les zygospores dans la solution de tournesol, ce qui n'offre pas d'inconvénient, puisqu'il n'y a pas ici de suc cellulaire liquide dont le mélange soit à craindre. Quant à l'endospore, elle présente une faible teinte rosée qui n'est peut-être qu'un effet d'optique.

Ces résultats, sans exclure précisément toute autre explication, se comprennent le mieux en admettant que notre globuline soit dissoute dans les mailles du protoplasme, grâce à un sel à réaction légèrement alcaline. Un autre fait vient à l'appui de cette interprétation : pour rendre le protoplasme granuleux, il n'est pas nécessaire de l'écraser dans l'eau distillée ; il suffit de meurtrir le moins du monde l'endospore. Cela se conçoit : une fois blessé, le protoplasme doit laisser filtrer au dehors le sel alcalin, et la globuline se précipite. Ainsi s'expliquent sans doute les zygospores à protoplasme un peu trouble que j'ai observées assez souvent : elles auront été imperceptiblement meurtries pendant l'enlèvement de l'exospore.

Notre substance est éminemment soluble dans le *chlorure de sodium* à 3 °/₀, à 5 °/₀, à 10 °/₀. Le précipité formé par le contact de

---

(¹) Schwarz, *Loc. cit.*, p. 35.

l'eau distillée (soit dans la zygospore, soit au dehors quand on l'écrase dans l'eau) se dissout rapidement par l'addition de chlorure de sodium. Il s'agit bien ici d'une dissolution et non d'un gonflement. Il ne reste alors du protoplasme qu'un stroma homogène, opalin, translucide, analogue à celui dont il a été question à propos de la réaction par le cuivre et la potasse.

La solution de notre globuline dans le chlorure de sodium ne diffuse pas sensiblement à travers l'endospore. On peut, en effet, traiter par le chlorure de sodium à 10 °/₀, puis par le *sulfate* ou l'*acétate de cuivre :* il se produit dans le protoplasme un précipité granuleux, blanc bleuâtre, qu'un excès de sel de cuivre redissout. Si maintenant on lave rapidement à l'eau et qu'on ajoute de la potasse, la coloration violette se produit aussi intense qu'avant l'action du chlorure de sodium.

La globuline de *Mucor* est très soluble dans la *potasse.*

Elle est précipitée par le *ferrocyanure de potassium acidulé d'acide acétique.* Après l'action de ce réactif, on peut laver à l'eau et traiter par le perchlorure de fer, à l'exemple de Th. Hartig et de Zacharias : tout le protoplasme devenu granuleux se colore en beau bleu; l'endospore bleuit également, l'huile reste incolore.

L'action des acides minéraux sur la zygospore est remarquable. Les faits que je vais indiquer résultent d'un grand nombre d'essais parfaitement concordants. Quand on fait arriver lentement une goutte d'*acide sulfurique* à 25 °/₀ sur une zygospore fraîche, pelée, à protoplasme bien clair, on voit immédiatement le protoplasme se troubler de proche en proche à partir du point que l'acide a rencontré d'abord. Ce trouble disparaît aussitôt, de sorte qu'il a déjà cessé d'exister à l'endroit où il est apparu en premier lieu, lorsqu'il se forme seulement au pôle opposé de la zygospore ; on a l'impression comme d'un nuage opaque qui traverserait le protoplasme. Puis, l'acide continuant à arriver, le protoplasme se trouble de nouveau, et plus fortement. Tous ces phénomènes durent trois à quatre secondes. Le second précipité est plus durable que le premier. Il disparaît cependant aussi, et d'autant plus vite que l'on active davantage l'afflux de l'acide à 25 °/₀. D'ordinaire, il faut cinq à dix minutes pour que ce second précipité soit redissous à son tour. La zygospore a alors complètement repris son aspect primitif : couche protoplasmique transparente et homogène, goutte d'huile parfaitement régulière, endospore incolore. Si l'on ajoute maintenant une goutte d'acide sulfurique concentré, tout reste incolore et le protoplasme ne se trouble plus; l'endospore gonfle énormément et elle comprime le contenu. Après un instant, la zygospore éclate : l'huile expulsée flotte en gouttelettes sur l'acide, la masse protoplasmique se dissout sans laisser de résidu. Quant à l'endospore, elle continue à gonfler jusqu'à sextupler son épaisseur; elle persiste encore longtemps avec ses sculptures presque intactes et ne disparaît qu'à la longue.

Si, au lieu d'ajouter de l'acide sulfurique concentré, on dilue au moyen d'eau, l'acide à 25 °/₀, le précipité n° 2 réapparaît comme auparavant. Peu d'eau suffit à provoquer cette réapparition. Enfin, en diluant encore davantage, ce précipité se redissout. Je n'ai pu constater la réapparition du précipité fugace n° 1. Une nouvelle addition d'acide sulfurique à 25 °/₀ fait réapparaître, puis disparaître de nouveau le précipité n° 2, et en mettant alternativement de l'eau et de l'acide on peut reproduire ce spectacle un grand nombre de fois.

Il ressort de ces expériences que notre globuline est précipitée par l'acide sulfurique faible, soluble dans l'acide plus fort. Mais ceci ne rend compte que du précipité n° 2. Comment interpréter le précipité n° 1? La globuline du *Mucor* étant très probablement tenue en dissolution dans le protoplasme vivant grâce à un sel alcalin, ainsi qu'on l'a vu plus haut, la première précipitation pourrait être due à l'exosmose du sel après que l'acide a tué le protoplasme ou à l'action de l'acide sur le sel lui-même. Cette dernière hypothèse est la plus vraisemblable; elle cadre mieux avec la rapidité du phénomène. Supposons qu'il s'agisse de phosphate bipotassique : l'acide sulfurique le transformera en phosphate monopotassique, dans lequel les globulines sont insolubles (1). Il faudrait admettre en outre : ou que notre globuline ainsi précipitée une première fois soit soluble en présence d'un peu plus d'acide, insoluble dans un acide plus concentré et de nouveau soluble dans un acide encore plus fort ; ou bien qu'il y ait dans le *Mucor* deux substances différant entre elles par leur précipitabilité : l'une, précipitée par une très petite quantité d'acide et soluble déjà dans l'acide un peu plus fort, l'autre, précipitée seulement par un acide plus concentré que ce dernier et soluble dans l'acide encore plus concentré (acide à 20 °/₀ environ et davantage). On pourrait enfin songer, pour expliquer les phénomènes, à quelque transformation de la globuline (par exemple en acidalbumine) sous l'influence de l'acide.

---

(1) F. Schwarz, *Loc. cit.*, p. 198.

L'action de l'*acide chlorhydrique* ressemble à celle de l'acide sulfurique. Je l'ai étudiée d'une façon moins complète. Je n'ai pas observé ici de précipité correspondant au n° 1 de tantôt : en déposant une zygospore dans l'acide chlorhydrique à 2 °/₀ (eau : 100 centimètres cubes, acide chlorhydrique de densité 1.12 : 2 centimètres cubes), on voit se produire dans le protoplasme un précipité abondant, pareil au n° 2 ci-dessus. Si l'on traite ensuite par l'acide chlorhydrique pur, ce précipité se redissout ; l'addition d'un peu d'eau le fait réapparaître, un excès d'eau le dissout de nouveau. En rajoutant maintenant de l'acide chlorhydrique à 2 °/₀ ou de l'acide plus fort, le précipité ne se reforme plus (comme cela avait lieu pour l'acide sulfurique) et l'acide phosphomolybdique ne donne plus non plus de précipité. Bref, le protoplasme contient dans ses mailles une substance insoluble dans l'eau, insoluble dans l'acide chlorhydrique à 2 °/₀, soluble dans l'acide chlorhydrique fort, et soluble ensuite dans l'eau, peut-être à cause des chlorures alcalins que l'acide a dû former. Mais ces diverses opérations ont permis à la substance de diffuser au dehors ou l'ont du moins profondément modifiée, puisque l'acide chlorhydrique, l'acide phosphomolybdique, l'iodure de potassium iodé (voir plus haut p. 208) ne la précipitent plus.

La globuline de *Mucor* est insoluble dans l'*alcool absolu*. Nous savons déjà, en effet, qu'une macération prolongée dans ce liquide n'empêche ni la réaction par l'iodure de potassium iodé, ni celle par l'acide phosphomolybdique, ni celle par le cuivre et la potasse. Si l'on écrase une zygospore dans l'alcool absolu de façon à en étaler largement le contenu, le protoplasme se trouble ; de même, le précipité formé par écrasement dans l'eau distillée ne disparaît pas quand on remplace l'eau par de l'alcool absolu.

Cependant, tant que le protoplasme reste enfermé dans l'endospore intacte, ou lorsque, étant écrasé, il forme une masse unique, sans se répandre, l'alcool absolu n'y produit aucun précipité : même après vingt-quatre heures, le protoplasme reste aussi clair, aussi homogène d'aspect qu'au début. Il y a plus. Parfois des zygospores, sans lésion visible, ont le protoplasme un peu trouble : traitées par l'alcool absolu, elles deviennent immédiatement claires et translucides. Si l'on remplace l'alcool par de l'eau distillée, le protoplasme se trouble de nouveau. Les zygospores à protoplasme trouble peuvent aussi être éclaircies par le chlorure de sodium à 10 °/₀. Si on lave ensuite à l'eau distillée, le protoplasme devient granuleux, opaque. Lorsqu'on traite maintenant par l'alcool absolu, la granulation disparaît, le protoplasme redevient homogène, translucide. (Je me suis spécialement assuré que mon alcool absolu était bien neutre au papier tournesol.) Vient-on à remplacer l'alcool par de l'eau distillée, le protoplasme se trouble encore une fois. Ces expériences, qui paraissent en contradiction avec l'insolubilité dans l'alcool, pourraient s'interpréter de plusieurs façons. Je m'abstiens toutefois d'insister pour le moment, n'ayant pas assez d'éléments pour me prononcer entre les diverses hypothèses.

Une dernière propriété doit être signalée : notre substance est *coagulable* par la chaleur. Si l'on chauffe une préparation en la tenant au-dessus d'une flamme, le protoplasme de la zygospore, qui était clair et translucide, se trouble, devient opaque, complètement granuleux, blanc. Ce phénomène a lieu à une température que mes recherches antérieures sur la décoloration du glycogène me permettent d'évaluer à 80° C. environ.

L'ensemble des propriétés permet de conclure qu'il y a dans la zygospore une substance — ou un mélange de substances voisines — *appartenant au groupe des globulines*. En effet, on a pu voir déjà que nous avons affaire à une vraie matière albuminoïde avec ses réactions typiques et non à une protéide au sens de Hoppe-Seyler. Reste à choisir entre les dix groupes d'albuminoïdes. Puisqu'il s'agit d'un produit normal de la zygospore au repos, nous pouvons sans doute laisser de côté les corps qui sont des albuminoïdes modifiés par quelque intervention ultérieure, tels que les albuminoïdes coagulés, les acidalbumines et les albuminates (obtenus respectivement par l'action des acides et des alcalis), l'hémialbumose et les peptones (obtenus par l'action des ferments digestifs). D'ailleurs, notre substance ne saurait être une peptone puisqu'elle se coagule par la chaleur et qu'elle précipite par le ferrocyanure acétique; la coagulation exclut aussi l'hémialbumose, et la grande solubilité dans les solutions de chlorure de sodium exclut les acidalbumines et les albuminates. La substance amyloïde, caractérisée par la coloration violacée que l'iode lui communique, et la mucine qui est un liquide filant, sont également hors de cause. Par sa grande solubilité dans les solutions faibles de chlorure de sodium, dans la potasse, dans les acides minéraux forts, notre substance s'éloigne du groupe de la fibrine. Enfin, elle n'est pas une albumine proprement dite, puisqu'elle est insoluble dans l'eau.

Les caractères des globulines concordent au contraire de tous points avec ceux de notre substance. Et cette concordance fournit en même temps une forte présomption que toutes les propriétés indiquées appartiennent bien à la même substance, comme nous l'avons admis implicitement jusqu'ici. De même que notre substance, les globulines sont des albuminoïdes coagulables, insolubles dans l'eau, très solubles dans la potasse et dans le chlorure de sodium à 5-10 °/₀, insolubles dans l'alcool absolu, précipitables (notamment la vitelline) par l'acide chlorhydrique ou l'acide sulfurique dilués, solubles dans ces acides concentrés. On indique pour les solutions de vitelline, chauffées rapidement, une température de coagulation de 80° C. environ. Par le sulfate de cuivre, la vitelline donne, comme notre substance, un précipité qui se dissout en violet dans les alcalis.

Après l'action du chlorure de sodium ou de l'acide chlorhydrique très faible ou du cuivre et de la potasse, nous avons déjà dit qu'il reste un *stroma* protoplasmique, qui a résisté à ces réactifs. On l'observe nettement en écrasant une zygospore dans l'eau, ce qui transforme le protoplasme en une masse granuleuse par suite de la précipitation de la globuline; puis en faisant agir du chlorure de sodium à 10 °/₀ : les granules sont dissous et le stroma subsiste seul. Ainsi préparé, il est homogène, translucide, opalin. Il est insoluble dans l'eau, insoluble dans le chlorure de sodium à 10 °/₀, où il gonfle toutefois légèrement, insoluble dans l'alcool absolu, dans l'acide chlorhydrique faible et dans le même acide fort; il semble soluble dans l'acide sulfurique concentré; il gonfle beaucoup par la potasse moyennement concentrée, se colore en jaune, puis en jaune brunâtre, puis en brun rouge par l'iode, mais sans présenter de granulation d'aucune sorte, et ne donne pas de réaction colorée avec la potasse et les sels de cuivre. Ces quelques propriétés, observées chemin faisant, permettent de supposer que nous avons affaire ici, comme dans les cas analogues, à la *plastine* de Reinke et Zacharias, la *cytoplastine* de Schwarz. Mais une étude plus complète du stroma ne rentrait pas dans le cadre de ce travail.

Rappelons les résultats essentiels exposés dans ce paragraphe. La zygospore mûre du *Mucor Mucedo* est formée d'une exospore noire, marquée de dessins clairs; d'une endospore incolore et transparente; d'une couche pariétale de protoplasme et d'une grosse goutte d'huile. Il y a sans doute aussi un noyau dont je ne me suis pas occupé. La couche protoplasmique consiste en un *stroma* (qu'il faut probablement rapporter à la plastine) imprégné d'une *substance liquide ou demi-liquide* abondante, qui précipite par l'iode, l'acide phosphomolybdique, l'iodure double de mercure et de potassium. L'insolubilité dans l'alcool absolu et dans l'alcool tartrique prouve qu'il s'agit d'une *matière protéique* et non d'un alcaloïde (¹). Cette conclusion a été confirmée par les réactions spéciales des matières protéiques (Millon, cuivre et potasse), et aussi

---

(¹) Comme pour les Spirogyres peptonées, l'alcool chlorhydrique donne ici des résultats moins nets que l'alcool absolu et l'alcool tartrique.

par l'étude de zygospores artificiellement imprégnées de colchicine. La substance liquide ou demi-liquide est constituée par une globuline ou peut-être, plus exactement, par un mélange de globulines inégalement précipitables par l'acide sulfurique, insolubles dans l'eau, mais tenues en dissolution dans le protoplasme vivant, très probablement grâce à la présence d'un sel à réaction alcaline légère.

La globuline qui remplit le stroma protoplasmique représente vraisemblablement la réserve azotée de la zygospore, comme l'huile en est la réserve non azotée.

§ 5. — ESSAIS MICROCHIMIQUES SUR LA CIGUË.

Les sels de coniine n'ont guère de réactions spéciales qui permettent de les caractériser facilement sous le microscope. Il était donc intéressant de contrôler par le procédé microchimique des dissolvants les résultats que fournit l'emploi des réactifs généraux.

Je rappellerai d'abord que les sels de coniine (mes essais ont porté sur de la coniine acidulée d'acide acétique, puis étendue de huit volumes d'eau) donnent par l'*iodure de potassium iodé* un précipité brun-kermès, qui pâlit bientôt et finit par disparaître. Il se reforme par une nouvelle addition du réactif.

L'*acide phosphomolybdique* produit un précipité abondant, blanc, à peine jaunâtre, qui passe graduellement au bleu par l'addition d'ammoniaque.

L'*iodure double de mercure et de potassium* donne un précipité abondant, blanc, à peine jaunâtre. Il disparaît par l'acide chlorhydrique assez concentré, en laissant un résidu jaune, d'aspect huileux, qui brunit peu à peu.

Le *tétrachlorure de platine*, l'*acide chlorhydrique*, l'*acide sulfurique concentré* n'ont rien donné; le *tannin* et le *sublimé corrosif* ne produisent qu'un trouble blanchâtre, à peine visible.

Les fruits verts du *Conium maculatum* contiennent une substance qui précipite fortement par l'iode. Pour que les cellules ne soient pas entamées, il faut faire des coupes transversales épaisses, mesurant $0^{mm}1$ et même $0^{mm}2$ d'épaisseur. On les passe rapidement à l'eau et on les traite par une solution assez faible d'*iodure de potassium iodé* (la solution au $^1/_{450}{}^{me}$, par exemple). On voit alors se former un précipité abondant brun rouge ou kermès, à reflet métallique bleuâtre, très nettement localisé dans le suc cellulaire de certaines cellules (1). Après peu de minutes, le précipité pâlit et disparaît. Si on ajoute alors un peu de solution d'iode plus concentrée, le précipité réapparaît en très petite quantité dans les cellules et en quantité très notable dans le liquide autour de la coupe, où il ne s'en était pas formé d'abord. En admettant par anticipation qu'il s'agisse d'un alcaloïde, — ce qui sera démontré tout à l'heure, — les phénomènes paraissent s'expliquer sans peine : le superiodure d'alcaloïde, insoluble, précipité en premier lieu, a perdu de l'iode et s'est transformé en iodure soluble, qui a diffusé assez rapidement hors des cellules épidermiques. Lorsqu'on remet ensuite de l'iode, le superiodure se reforme surtout dans le liquide ambiant et seulement en petite quantité dans les cellules où n'était resté que très peu de l'iodure. Le second précipité finit d'ailleurs par disparaître à son tour.

L'*acide phosphomolybdique* produit, dans les mêmes cellules que l'iode, un précipité blanc, à peine jaunâtre.

Quelles sont ces cellules? Dans le fruit jeune, le précipité occupe les deux épidermes — externe et interne — des carpelles, les gros poils papilleux épidermiques, et, d'une façon peu marquée, le pourtour du canal de tissu conducteur. Dans le fruit presque mûr, les cellules de l'épiderme externe donnent encore fortement la réaction, tandis que celles de l'épiderme interne ne renferment que peu de précipité : à mesure que le fruit mûrit, celles-ci épaississent leur paroi et prennent une section semi-lunaire, puis meurent.

---

(1) Ce reflet métallique s'observe assez souvent dans les alcaloïdes précipités microchimiquement par l'iode. Liebermann (*Ber. d. chem. Ges.*, 1876, IX, p. 154) a déjà fait remarquer qu'une solution aqueuse de coniine, traitée dans un verre de montre par l'iodure de potassium iodé, donne, au début, des traînées violettes, à côté des traînées brunes et jaunes.

J'ai fait aussi quelques recherches sur les jeunes plantes en germination, hautes de 2 centimètres environ et n'ayant encore épanoui que leurs deux cotylédons. Le précipité kermès par l'iode prend naissance dans tout l'épiderme de l'axe hypocotylé, à l'exception des cellules stomatiques, où il y a de l'amidon et point de précipité. L'assise pilifère de la jeune racine et les poils radicaux ne présentent aucune réaction brune par l'iode.

Pour déterminer s'il s'agit d'un alcaloïde ou d'une matière protéique, j'ai fait macérer des coupes épaisses de fruits à demi mûrs dans les liquides suivants :

a) Eau distillée;

b) Alcool absolu;

c) Alcool tartrique.

Déjà après un quart d'heure, les coupes *b*) et *c*), traitées par l'iodure de potassium iodé à $^1/_{450}$, ne donnent plus la réaction, tandis que celles de *a*), restées vivantes, la donnent encore aussi fortement qu'au début.

Ces résultats très frappants prouvent que c'est bien ici un alcaloïde que l'iode précipite.

J'ajoute que les cellules de l'albumen de la graine qui se colorent en jaune brun par l'iode conservent cette faculté après leur séjour dans *a*), *b*) et *c*). Il s'agit là de matières protéiques.

§ 6. — Essais microchimiques sur le Lupin.

Schulze et Barbieri ayant extrait de la peptone des Lupins en germination (¹), j'ai voulu examiner ceux-ci microchimiquement. Mes expériences ont porté sur des plantes de *Lupinus elegans* qui n'avaient formé encore que leurs deux cotylédons.

Une coupe à travers un cotylédon vigoureux, perpendiculairement à ses deux épidermes, mise dans l'eau et additionnée de la solution d'*iodure de potassium iodé* au $^1/_{450}$, présente dans toutes ses cellules

---

(¹) Husemann-Hilger, *Pflanzenstoffe*, p. 435.

épidermiques et dans un grand nombre de ses éléments parenchymateux (cellules en palissade et parenchyme spongieux), surtout autour des faisceaux fibro-vasculaires, un précipité abondant, granuleux, brun-kermès. Dans les cellules où il est le plus abondant, le précipité a un reflet métallique bleuté, quand on l'examine par transparence; observé sur fond opaque, il paraît brun-kermès comme dans les autres cellules. Le précipité est dû à une substance en dissolution. Il ne se trouve pas dans les grains de chlorophylle : ceux-ci forment des points clairs qui se détachent en un dessin élégant sur le fond brun des cellules de parenchyme traitées par l'iode. Certaines cellules parenchymateuses semblent seulement colorées en jaune pur; à un examen attentif, on voit cependant qu'elles renferment aussi, au moins pour la plupart, du précipité kermès, mais en très minime quantité.

L'*iodure double de mercure et de potassium* acidulé d'acide chlorhydrique produit un précipité blanc dans les cellules épidermiques et la plupart des cellules du parenchyme.

Par l'*acide phosphomolybdique,* additionné d'une goutte d'acide nitrique pour tuer plus sûrement le protoplasme, un précipité léger, blanc bleuâtre apparaît dans les mêmes cellules.

Dans les cotylédons âgés, prêts à se flétrir, la matière précipitable par l'iode est beaucoup moins abondante : ce réactif n'y produit plus guère qu'une coloration brune, très persistante, qui se montre surtout dans les deux épidermes et dans quelques cellules circumfasciculaires.

Les feuilles contiennent aussi dans leur épiderme la matière précipitable par l'iode, surtout dans l'épiderme de la face supérieure.

La substance qui précipite par l'iode, l'iodure double, l'acide phosphomolybdique est-elle la peptone signalée par Schulze et Barbieri? Les dissolvants vont nous l'apprendre.

On dépose des coupes transversales de cotylédon, suffisamment épaisses pour contenir à coup sûr des cellules intactes, dans nos liquides habituels :

a) Eau distillée;

b) Alcool absolu;

c) Alcool tartrique.

Après une demi-heure :

a) Réaction par l'iode aussi forte qu'avant la macération.

b) Plus trace de la réaction par l'iode. — Dans le parenchyme, les grains de chlorophylle ont été décolorés par l'alcool.

c) Plus trace de la réaction par l'iode. — Les grains de chlorophylle contiennent encore un peu de matière colorante (hypochlorine), qui brunit légèrement par l'iode, mais cette coloration n'a rien de commun avec le précipité de tantôt.

Il résulte de là que le précipité est dû non à de la peptone, mais à un corps de nature alcaloïdique. Cette conclusion est confirmée par le fait que le cuivre et la potasse ne produisent qu'une faible teinte bleuâtre dans les cellules du cotylédon, sans aucune coloration violacée.

J'ai encore obtenu les réactions microchimiques suivantes dans les cellules épidermiques des cotylédons (¹) :

L'*acide sulfurique concentré* leur communique une belle teinte jaune, un peu verdâtre, analogue à celle que prend la colchicine.

Par l'addition d'une goutte d'*acide nitrique*, cette coloration passe au jaune orangé.

Par l'addition de *bichromate de potassium*, la coloration jaune brunit légèrement.

L'*acide nitrique* seul produit une coloration jaune verdâtre qui passe bientôt au jaune orangé.

En traitant une coupe par la *potasse* peu concentrée, on voit les cellules épidermiques devenir d'un jaune intense, un peu verdâtre. Bientôt la matière colorée ainsi diffuse dans le liquide environnant et disparaît.

Pour comprendre ces faits, il faut se rappeler que des corps alcaloïdiques sont connus dans diverses espèces de Lupin. Il y en a deux principaux :

1° L'alcaloïde *lupinine*;

(¹) Certaines de ces cellules épidermiques et sous-épidermiques renferment un peu de pigment rouge. J'ai eu soin d'observer les réactions dans des cellules non pigmentées.

2° L'alcaloïde *lupinidine;* auxquels il convient d'ajouter :

3° Le glycoside appelé également *lupinine,* qui se dédouble par les acides dilués en glycose et *lupigénine.*

Dans nos essais, le précipité abondant par l'iode, l'iodure double et l'acide phosphomolybdique doit être attribué à un corps alcaloïdique; les réactions que j'ai indiquées en dernier lieu peuvent être rapportées au glycoside. Le glycoside lupinine est, en effet, décrit comme se dissolvant en jaune foncé dans les alcalis; les acides le dédoublent, et la lupigénine formée est jaune; la solution de celle-ci dans l'acide sulfurique devient jaune rougeâtre intense quand on l'additionne d'acide nitrique, brun rouge quand on ajoute du bichromate de potassium.

On devrait donc admettre que les mêmes cellules des cotylédons de Lupin contiennent à la fois l'alcaloïde et le glycoside. Toutefois les propriétés de ces corps ne me paraissent pas suffisamment élucidées par les chimistes pour que je tire des conclusions définitives de mes expériences microchimiques. La seule chose que j'en veuille déduire pour le moment, — et celle-là ne fait pas de doute, — c'est que la substance précipitable par les réactifs généraux dans les cotylédons de Lupin est alcaloïdique et non protéique.

§ 7. — Conclusions.

Voici, par manière de récapitulation, les principaux résultats auxquels nous sommes parvenus; les détails se trouvent consignés dans les paragraphes précédents.

La localisation microchimique est relativement facile pour les alcaloïdes doués de réactions caractéristiques et spéciales. Il n'en va plus de même lorsque les réactions spéciales font défaut ou ne sont pas applicables sous le microscope et que l'on en est réduit aux réactifs généraux. Car ces réactifs n'agissent pas seulement sur les alcaloïdes. Sans parler de certaines amines et de certains glycosides qui sont précipités par l'iode, *les réactifs généraux des alcaloïdes précipitent aussi la plupart des matières protéiques.*

Les meilleurs traités de chimie négligent de mettre en relief cette remarque importante; je n'y ai moi-même pas fait suffisamment attention au début de mes recherches. Mais je dois ajouter que cela ne touche en rien aux résultats que mes élèves et moi nous avons publiés sur la localisation des alcaloïdes. Dans le *Colchicum*, l'*Aconitum*, les *Narcissus*, le *Papaver*, des réactifs spéciaux venaient, en effet, à l'appui des réactifs généraux. Dans le *Nicotiana*, la disparition du précipité obtenu par l'iode indique bien qu'il s'agit de nicotine et non d'un albuminoïde, et pour l'*Atropa* une conclusion analogue ressort de l'aspect étoilé que le précipité prend au bout d'un certain temps. Cependant pour ces deux dernières plantes et peut-être pour l'Aconit, il ne sera pas inutile de confirmer nos résultats au moyen des dissolvants.

L'emploi des dissolvants repose sur ce fait, que les sels acides des alcaloïdes sont solubles dans l'alcool, tandis que les matières protéiques y sont insolubles. Il n'y a guère parmi ces dernières que la gluten-fibrine, extraite par Ritthausen du gluten des céréales, qui semble faire exception : elle passe pour se dissoudre dans l'alcool absolu, en quantité d'ailleurs extrêmement minime. Je n'ai point fait d'essais sur cette substance, mais il est probable que ce peu de solubilité ne suffit pas pour que l'alcool absolu l'enlève à une cellule intacte, d'autant plus que les solutions d'albuminoïdes sont, comme on sait, à peine diffusibles.

Nos essais montrent que l'alcool acidulé d'acide tartrique, indiqué par Stas pour l'extraction macrochimique des alcaloïdes, réalise très bien le double desideratum : dissoudre les alcaloïdes et précipiter les matières protéiques, de façon à les différencier microchimiquement. Pour la préparation du réactif, je recommanderai les proportions suivantes : 1 gramme d'acide tartrique cristallisé dissous dans 20 centimètres cubes d'alcool absolu. Cet *alcool tartrique*, comme nous l'avons appelé par abréviation, a l'avantage de tuer immédiatement le protoplasme. Grâce à son acidité, il facilite l'extraction des alcaloïdes qu'il transforme en sels acides, il neutralise les sels alcalins qui pourraient exister et rendre les matières protéiques un peu solubles dans l'alcool, et il favorise la réaction subséquente des matières protéiques avec l'iode.

L'*alcool absolu* peut aussi être employé. Dans certains cas (Spirogyres peptonées), il précipite même les peptones plus complètement que l'alcool tartrique. Mais il donne ensuite des précipités moins marqués, surtout avec l'iode, et il ne dissout pas aussi bien les alcaloïdes. L'*alcool acidulé d'acide chlorhydrique*, qui m'avait été obligeamment conseillé par mon savant collègue M. Armand Gautier, m'a donné d'excellents résultats pour la dissolution des alcaloïdes, mais il convient moins bien pour la précipitation des matières protéiques (*Spirogyra*, *Mucor*). En effet, comme le remarque Hoppe-Seyler et comme je l'ai vérifié, les peptones ne sont pas précipitées de leurs dissolutions aqueuses par l'alcool en présence d'acide chlorhydrique libre.

D'une façon générale, *c'est donc l'alcool tartrique qui mérite la préférence.*

Voici la manière d'opérer.

Nous supposons un tissu dans lequel les réactifs généraux ont donné des précipités. On en fait des coupes assez épaisses pour contenir au moins une couche de cellules entières et on les met à macérer dans l'alcool tartrique.

La durée d'immersion des coupes doit varier suivant les circonstances : il suffit ordinairement d'une demi-heure à une heure pour les cellules à paroi mince; mais dans les cas difficiles, lorsque l'on a affaire à des membranes épaisses et peu perméables, il faut prolonger la macération pendant vingt-quatre heures au moins.

Pour de courtes durées, on se borne à déposer les coupes dans un verre de montre rempli d'alcool tartrique et recouvert d'un autre verre de montre plus grand, que l'on a tapissé d'un morceau de papier à filtrer imbibé d'alcool. Pour les longues macérations, on déposera les coupes dans un petit tube à réactifs contenant de l'alcool tartrique et soigneusement bouché.

Quel que soit le procédé suivi, on prélève de temps en temps quelques coupes, on les passe un instant à l'eau distillée et on les traite par les réactifs généraux : iodure de potassium iodé, iodure double de mercure et de potassium, acide phosphomolybdique, etc.

S'il s'agit d'alcaloïdes, ils auront été enlevés par l'alcool tartrique et les réactions générales n'auront plus lieu; s'il s'agit, au contraire, de matières protéiques, elles seront restées dans les cellules et l'on obtiendra les réactions comme auparavant.

Dans ce dernier cas, la conclusion pourra être confirmée par des réactions propres aux matières protéiques, notamment par celle de Millon et celle de Piotrowski. La première est bien connue : on sait qu'il est bon de chauffer pour qu'elle se manifeste nettement. La seconde, qui a déjà été appliquée par Sachs à la recherche microchimique des albuminoïdes, s'obtient en plongeant la coupe dans une solution concentrée de sulfate ou d'acétate de cuivre pendant un quart d'heure (plus longtemps si la solution est moins forte), lavant rapidement à l'eau et traitant par la potasse. Parfois la réaction réussit déjà à froid (Spirogyres peptonées, *Mucor*); dans d'autres cas, il est nécessaire de chauffer la potasse jusqu'à l'ébullition. Ces deux réactions, à elles seules, ne sont pas très probantes; mais venant à la suite des réactifs généraux et de l'alcool tartrique, elles acquièrent une valeur incontestable.

Si la marche que nous venons d'indiquer ne supprime pas toutes les difficultés, elle conduit du moins, dans la grande majorité des cas, à des conclusions certaines. Nous l'avons d'abord mise à l'épreuve avec succès, d'une part, sur les cellules à colchicine du *Colchicum autumnale*, de l'autre, sur des *Spirogyra crassa* artificiellement imprégnés de peptone. Elle nous a permis ensuite de reconnaître que la substance qui précipite par les réactifs généraux dans les zygospores mûres du *Mucor Mucedo* est une matière protéique, — une globuline, — tandis que des précipités analogues observés dans l'épiderme des carpelles de *Conium maculatum* et dans les cotylédons de *Lupinus elegans* doivent être rapportés à des corps de nature alcaloïdique.

Septembre 1889.

SUR

L'ALCALOÏDE DES NARCISSES

PAR

A. DE WÈVRE (¹)

NOTE PRÉLIMINAIRE.

Depuis que le premier alcaloïde a été entrevu par Fourcroy, en 1792, dans l'écorce d'un quinquina, on a reconnu et extrait, d'autres végétaux, beaucoup de principes analogues.

Le nombre de ces substances s'accroît tous les jours; M. Chastaing en mentionne cent vingt principaux dans son ouvrage sur les alcaloïdes, publié en 1885 dans l'*Encyclopédie Fremy*. Depuis, on en a encore isolé plusieurs.

Malgré les nombreux travaux qui ont été publiés sur cette matière, un grand nombre de ces corps ne sont que très imparfaitement connus.

Parmi ceux-ci se trouve l'alcaloïde des narcisses, dont je me permettrai de vous entretenir.

Cette substance a été retirée en 1877 du *Narcissus Pseudo-Narcissus* par Gerrard, chimiste anglais (²). Depuis, M. Errera en a repris l'étude au point de vue microchimique et a reconnu sa pré-

---

(¹) Cette note a paru dans le *Bulletin de la Société belge de microscopie*, t. XIII, p 137. 30 avril 1887.

(²) *The proximate principles of the Narcissus Pseudo-Narcissus*, by A.-W. GERRARD, F. C. S. (PHARMACEUTICAL JOURNAL AND TRANSACTIONS, 1887.)

sence dans un grand nombre de narcisses (1) et spécialement dans le *Narcissus rugulosus*, d'où, à sa demande, je l'ai extraite à mon tour.

Le procédé auquel j'ai eu recours est celui de M. Stas; sauf quelques détails, c'est également ce moyen qu'a employé Gerrard. Voici comment on opère :

On divise les plantes (feuilles, hampes, bulbes, etc.) en menus fragments, on les fait macérer quelque temps avec le double de leur poids d'alcool très fort additionné d'un peu d'acide tartrique (au moins de l'alcool à 80° afin d'éviter le mucilage). On porte ensuite le mélange à une température qui ne doit pas dépasser 60° C.; on passe, on exprime et l'on recommence une deuxième fois l'opération. On joint les décoctions, on concentre au bain de vapeur; puis, lorsque le liquide a une consistance sirupeuse, on ajoute du carbonate de soude ou de la potasse, on agite avec de l'éther et on laisse reposer. Au bout de quelques instants, le liquide se partage en deux couches : l'une, supérieure, contenant l'alcaloïde, qui est décantée et évaporée; l'autre, inférieure, dont on n'a pas à s'occuper.

Si le résidu de l'évaporation est jaune, on ajoute un peu d'eau acidulée d'acide nitrique en quantité suffisante pour saturer l'alcaloïde, puis on précipite la base alcaline par la potasse ou le carbonate de soude, on agite avec de l'éther, on décante la couche éthérée et on l'évapore.

Un procédé indiqué par Husemann pour les alcaloïdes solubles dans l'eau m'a aussi donné de bons résultats; seulement il est plus long et demande beaucoup de précautions. Voici en quoi il consiste :

Les plantes, divisées aussi finement que possible, sont chauffées au bain-marie avec de l'eau acidulée d'acide tartrique, pendant longtemps (j'ai laissé le mélange pendant trois quarts d'heure environ exposé à l'action de la chaleur), on passe et l'on reprend le résidu une deuxième fois par de l'eau acidulée, on passe, on joint les deux liquides, on évapore et l'on précipite le mucilage par l'acétate de plomb. Après avoir filtré, on y verse de l'acide sulfurique jusqu'à ce qu'il ne se forme plus de précipité de sulfate de plomb, on filtre de nouveau et l'on concentre fortement.

---

(1) Errera; Maistriau et Clautriau, *Premières recherches sur la localisation et la signification des alcaloïdes*. (Journ. de méd., de chir. et de pharmacol., 5 avril 1887.)

On met l'alcaloïde en liberté par l'addition d'acide phosphomolybdique qui le précipite sous forme de flocons jaunes; ceux-ci sont recueillis et mélangés soit à du carbonate de chaux, soit à du carbonate de baryte et maintenus pendant un certain temps à une chaleur de 80°.

Pour avoir la base alcaline, il suffit de traiter ce mélange par l'alcool chaud, de filtrer et d'évaporer le liquide obtenu.

Si l'alcaloïde n'était pas pur, on le purifierait comme dans le procédé précédent.

Dans cette méthode, il est nécessaire, si l'on veut être certain d'avoir tout le principe actif, de faire bouillir le précipité de mucilage ainsi que celui de sulfate de plomb, le premier surtout, avec de l'eau acidulée et de l'ajouter au restant du liquide qui contient la base alcaline.

La substance ainsi obtenue est blanche, à peine jaunâtre, granuleuse, amorphe, soluble dans l'eau, l'alcool et l'éther.

L'acide phosphomolybdique y produit un précipité jaune; l'iodure de potassium iodé précipite en brun marron, le tanin en jaune sale, le tétrachlorure de platine en jaune; l'iodure de mercure et de potassium y forme de petits flocons jaunes.

J'ai obtenu avec ces corps quelques réactions colorées bien apparentes :

1° Il jaunit sous l'influence de l'acide sulfurique concentré et ne paraît pas changer de couleur par l'addition d'une goutte d'acide nitrique;

2° Si, à la solution dans l'acide sulfurique concentré, on ajoute du bichromate de potassium, elle prend une couleur vert émeraude. Cette réaction est très nette;

3° Le réactif de Froehde (molybdate de soude et acide sulfurique concentré) produit une coloration jaune brunâtre, et il paraît se former un précipité qui est d'abord jaune, puis devient brun.

La quantité de produit dont je disposais ne m'a pas permis de pousser les recherches plus loin. Je continue du reste l'étude de ce corps.

Bruxelles, laboratoire d'anatomie et de physiologie végétales
de l'Université.

LOCALISATION DE L'ATROPINE

PAR

A. DE WÈVRE ([1])

Occupé depuis quelque temps, au laboratoire de M. Errera, à étudier la localisation de divers alcaloïdes et glycosides dans les tissus végétaux, je me permets de présenter aujourd'hui un aperçu des résultats que m'a fournis la belladone (*Atropa Belladona*).

Voici d'abord les principales réactions indiquées pour l'atropine :

1. Le tanin produit un précipité blanc, soluble dans l'acide chlorhydrique.
2. L'iodure de potassium iodé donne un précipité brun rougeâtre très abondant, qui se transforme ensuite en étoiles à éclat métallique.
3. L'iodure double de mercure et de potassium donne un précipité caséeux.
4. L'acide picrique donne, à la longue, dans les solutions concentrées, un précipité jaune, cristallin.
5. Le chlorure de platine donne un précipité jaune isabelle.
6. Le chlorure d'or précipite l'atropine en jaune.
7. L'acide phosphomolybdique donne un précipité jaune clair.
8. Si l'on évapore au bain-marie, jusqu'à siccité, un peu d'atro-

---

([1]) Cette note a été publiée dans le *Bulletin de la Société belge de microscopie*, t. XIV, p. 19, 29 octobre 1887.

pine avec de l'acide nitrique fumant, que l'on humecte le résidu au moyen d'une goutte d'une solution de potasse caustique dans l'alcool absolu, on obtient une coloration violette qui passe ensuite au rouge (*réaction de Vitali*).

Parmi ces réactifs, celui qui convient le mieux pour la localisation de l'alcaloïde est l'iodure de potassium iodé. Il produit dans les cellules un précipité brun, sur la nature duquel il n'y a aucun doute à avoir; on voit même des cristaux étoilés à aspect métallique se montrer au bout d'un certain temps.

L'acide phosphomolybdique m'a donné également des résultats assez satisfaisants, du moins pour la tige : il détermine dans les cellules un précipité jaunâtre. Quant aux autres réactifs, les indications qu'ils fournissent ne sont pas assez sûres pour qu'on puisse recommander leur emploi.

La recherche microchimique de l'atropine doit se faire de préférence sur les coupes longitudinales, où les cellules sont moins endommagées que sur les coupes transverses.

Voici ce que j'ai observé dans les différentes parties du végétal : racine, tige, pétiole, feuille et fruit.

Racine. — Dans une racine de la grosseur du petit doigt, les zones à alcaloïde sont : l'épiderme et quelques rangées de cellules du parenchyme sous-épidermique, une ou deux couches de cellules parenchymateuses entourant le liber externe, enfin quelques cellules relativement peu nombreuses, situées dans la partie de la moelle qui avoisine le liber interne.

Les vieilles racines (grosseur du poignet) en contiennent beaucoup moins que les jeunes et l'alcaloïde ne se trouve plus que dans l'écorce, surtout dans l'épiderme et les cellules voisines.

Tige. — Elle renferme beaucoup d'alcaloïde, surtout lorsqu'elle est encore molle. Plus tard, elle durcit et paraît en renfermer moins, surtout à l'approche de l'hiver ; il est même difficile d'obtenir alors la réaction d'une façon convenable.

A mesure que la plante vieillit, on remarque que l'atropine quitte les parties les plus centrales pour se rapprocher davantage de l'écorce.

L'alcaloïde se trouve dans les tiges jeunes aux endroits suivants :

1° Dans l'épiderme et deux ou trois assises de cellules sous-jacentes;

2° Dans le parenchyme qui entoure le liber;

3° A la périphérie de la moelle.

Pétiole. — C'est encore une fois l'épiderme et les cellules sous-jacentes qui contiennent le plus d'atropine.

Feuille. — Toutes les parties de la feuille paraissent en renfermer, mais c'est surtout dans l'épiderme supérieur que l'on peut indiquer sa présence avec certitude.

Fruit. — On peut répéter pour le fruit ce qui a été dit de la feuille, c'est-à-dire que l'alcaloïde se localise surtout avec netteté dans l'épiderme.

La localisation des alcaloïdes dans les feuilles et les fruits présente de grandes difficultés, à cause des matières albuminoïdes, de l'amidon et surtout de la chlorophylle; cette dernière est particulièrement incommode, par suite de la teinte brunâtre qu'elle prend sous l'influence de l'iode.

Tous mes efforts pour voir s'il y a de l'atropine dans le liber sont restés sans résultat. J'ai parfois remarqué des cellules très allongées qui en contenaient, mais ces cellules pourraient bien appartenir au parenchyme fondamental et non au liber. Le bois et le cambium n'en renferment jamais.

En résumé, on voit :

1° Que c'est surtout dans l'épiderme et au voisinage des deux massifs libériens que l'alcaloïde se trouve;

2° Qu'il paraît diminuer et se localiser de plus en plus dans l'écorce quand la plante avance en âge.

Bruxelles, laboratoire d'anatomie et de physiologie végétales de l'Université.

RECHERCHES MICROCHIMIQUES

SUR LA

LOCALISATION DES ALCALOÏDES

DANS LE

PAPAVER SOMNIFERUM

PAR

G. CLAUTRIAU (¹)

La place prépondérante qu'occupe dans la matière médicale le *Papaver somniferum* désignait spécialement cette plante pour la recherche microchimique des alcaloïdes qu'elle renferme.

La découverte de la morphine, au commencement de ce siècle, par Seguin et par Sertuerner, qui le premier en 1816 insista sur sa nature de base alcaline, rendit évidente l'existence dans les plantes de principes alcalins, dont jusqu'alors on avait contesté la présence dans le règne végétal. Elle fut le point de départ de recherches nombreuses sur les alcaloïdes végétaux, que l'on considéra dès lors comme étant les principes actifs d'un grand nombre de plantes médicinales. Aussi l'analyse chimique porta-t-elle principalement sur les végétaux à propriétés actives qu'employait la médecine; et, comme souvent la thérapeutique n'utilise que certaines parties, ou même certains produits du végétal, ce fut surtout dans ces produits ou dans ces parties de la plante que l'on rechercha la présence des alcaloïdes.

(¹) Ce travail a paru dans les *Annales de la Société belge de microscopie*, t. XII, 1889.

Ce fait est surtout bien évident pour le Pavot. La plante resta dédaignée des chimistes, alors que son latex desséché, l'opium, était l'objet de très nombreuses recherches, qui ont amené dans ce produit la découverte d'un grand nombre d'alcaloïdes distincts.

Déjà, en 1803, Derosne avait découvert la narcotine, mais sans attirer l'attention sur sa nature basique. En 1832, Pelletier isola la narcéine, et la même année, Robiquet fit la découverte de la codéine.

Les autres alcaloïdes trouvés dans l'opium depuis lors sont :

La pseudomorphine	(1835)	Pelletier.
La thébaïne	(1835)	Thiboumery.
La papavérine.	(1848)	Merck.
La cryptopine.	(1864)	Smith.
La rhœadine	(1865)	Hesse.
La codamine	(1870)	—
La laudanine	(1870)	—
La lanthopine.	(1870)	—
La méconidine	(1870)	—
La laudanosine	(1871)	—
L'hydrocotarnine.	(1871)	—
La protopine	(1871)	—
La gnoscopine		Smith.

On peut y ajouter la papavéramine, l'oxynarcotine, retirées également de l'opium, et la papavérosine, trouvée par Deschamps dans les capsules sèches de Pavot.

Ces alcaloïdes sont unis dans l'opium aux acides méconique, lactique et sulfurique.

Peut-on considérer cette longue liste comme définitivement close? Assurément non. Certains chimistes contestent la présence de tous ces corps dans l'opium, admettant que plusieurs d'entre eux pourraient n'être que le résultat de métamorphoses éprouvées par les autres alcaloïdes, au cours des nombreuses manipulations en présence d'acides, d'alcalis, que nécessite leur mode de préparation.

Guibourt, qui a analysé un très grand nombre d'échantillons d'opium, prétend qu'il s'altère en vieillissant (¹).

Nous devons donc être prudents et ne pas admettre *a priori* l'existence, dans le *Papaver somniferum*, de tous ces alcaloïdes. Car, en supposant même que l'opium les renferme effectivement tous, il est permis de douter que la composition chimique de celui-ci soit identique à la composition chimique du latex, ce liquide laiteux devant être desséché en couches relativement minces, en plein soleil et au contact de l'air, pour donner les masses brunes qui constituent l'opium.

La composition chimique de ce produit est des plus complexes. Outre les alcaloïdes, on y trouve du mucilage, des matières pectiques, des matières albuminoïdes, du sucre, de la cire, du caoutchouc, différentes matières organiques fixes ou volatiles, acides ou neutres, des sels organiques et inorganiques à base de calcium, de potassium et de magnésium. La dessiccation de ce mélange se fait-elle sans que des changements chimiques se produisent? Cela est peu probable. D'autant plus que beaucoup de ces alcaloïdes n'existent dans l'opium qu'en quantités très minimes.

Ceux que l'on y trouve en proportion notable sont : la morphine (de 2.7 à 22.8 °/₀, en moyenne 10 °/₀), la codéine (de 0.2 à 0.8 °/₀), la narcotine (de 2 à 10 °/₀), la narcéine (de 0.02 à 0.1 °/₀), la papavérine (de 0.5 à 1 °/₀) et la thébaïne (de 0.2 à 0.5 °/₀).

Leurs principales réactions chimiques sont :

Morphine. — Très peu soluble dans l'eau, assez soluble dans l'alcool, presque insoluble dans l'éther, soluble dans un excès de potasse, peu soluble dans l'ammoniaque.

La morphine précipite en brun kermès par l'iodure de potassium iodé, en rouge-orange par l'iodure double de bismuth et de potassium, en blanc jaunâtre par l'iodure double de mercure et de potassium, en blanc par l'iodure double de cadmium et de potassium, en jaune par l'acide phosphomolybdique, en blanc par l'acide

---

(¹) DORVAULT, *L'Officine,* édition de 1880, p. 648.

phosphotungstique. Elle précipite le chlorure d'or et faiblement le chlorure d'iridium.

La morphine est un réducteur énergique. Elle réduit l'acide iodique avec mise en liberté d'iode, que l'on peut séparer par le chloroforme; les sels d'or et le nitrate d'argent sont réduits; et elle précipite du bleu de Prusse d'un mélange de ferricyanure de potassium et d'un persel de fer.

La solution de morphine traitée par le perchlorure de fer se colore en bleu.

L'acide sulfurique concentré, à froid, dissout la morphine et se colore au bout de douze à quinze heures ou plus, suivant la concentration de l'acide, en violet faible. En chauffant la dissolution à 150°, la réaction se produit immédiatement; et si, après refroidissement, on ajoute un peu d'acide nitrique dilué, d'hypochlorite de soude ou d'eau de chlore, on obtient à la limite de séparation des deux liquides une magnifique coloration bleu violet passant au rouge brun par l'agitation.

La solution sulfurique de morphine chauffée et additionnée d'un cristal de bichromate de potassium devient verte, puis passe immédiatement au rouge violacé.

Une solution récente de molybdate de soude dans l'acide sulfurique colore la morphine en violet, puis en bleu, puis en vert, qui disparaît.

L'acide sulfurique en présence de saccharose donne une coloration rouge.

La solution sulfurique de morphine, traitée par l'arséniate de soude, se colore, à chaud, en violet foncé; à froid, la réaction ne se produit pas.

La solution sulfurique de morphine chauffée, puis refroidie, et additionnée avec précaution de petites quantités de potasse alcoolique (30 à 40 °/₀), donne une masse cristalline, due à la précipitation de sulfate de potassium; le liquide surnageant est d'abord coloré en gris bleu violacé, passant au jaune et jaune rouge par des quantités plus considérables de potasse, et par un excès il prend une belle teinte rouge-rubis.

L'acide sulfurique contenant du méthylal donne immédiatement à froid une magnifique coloration violette.

L'acide sulfurique avec l'aldéhyde benzoïque donne une coloration jaune orange.

L'acide sulfurique renfermant de l'acétone colore en rouge orange foncé, passant ensuite au bleuâtre.

La solution sulfurique d'acide niobique colore en rouge violacé.

La solution sulfurique d'acide titanique colore en rouge violacé intense.

La solution sulfurique de sélénite de soude produit une coloration d'un beau vert intense, disparaissant petit à petit avec une teinte brune.

La solution sulfurique de tungstate de soude se colore lentement en rose.

La solution ammoniacale de sulfate de cuivre précipite les solutions de morphine en vert émeraude.

La solution de morphine traitée par l'eau de chlore ou par l'hypochlorite de soude en quantité pas trop considérable se colore en jaune verdâtre, qui passe au rouge par l'addition d'ammoniaque. S'il y a un excès de chlore, la coloration par l'ammoniaque est jaune.

Codéine. — Soluble dans l'eau, très soluble dans l'alcool, fort soluble dans l'éther, insoluble dans la potasse concentrée.

La codéine précipite sensiblement de la même manière par les réactifs généraux qui précipitent la morphine.

L'iodure double de zinc et de potassium donne avec la codéine un précipité blanc abondant.

Elle n'est pas réductrice et est sans action sur le perchlorure de fer.

L'acide sulfurique concentré la colore en bleu au bout de huit jours.

La solution sulfurique de codéine, chauffée, devient rouge foncé par addition d'une goutte d'acide azotique.

La solution sulfurique de molybdate de soude dissout la codéine avec une teinte verte, qui devient bleue, puis brun jaune.

La solution sulfurique de sélénite de soude donne une coloration verte intense, teinte de vert de Schweinfurth, persistant longtemps.

L'acide azotique dissout la codéine avec coloration rouge foncé.

L'acide sulfurique contenant de l'oxyde de fer colore la codéine en beau bleu intense, sous l'action de la chaleur.

La saccharose et l'acide sulfurique donnent la même réaction qu'avec la morphine.

Le chlore et l'ammoniaque colorent également en rouge.

Narcotine. — Presque insoluble dans l'eau, soluble dans l'alcool, soluble dans l'éther, très soluble dans le chloroforme et la benzine, insoluble dans la potasse.

Les réactifs généraux de la morphine précipitent la narcotine.

Le chlorure de palladium la précipite en jaune brunâtre, et le chlorure d'iridium en jaune d'ocre.

L'acide sulfurique, au bout de quelques jours, la colore en jaune rouge.

La solution sulfurique de narcotine chauffée à 150°, puis traitée par l'acide nitrique dilué ou l'hypochlorite de soude, se colore en rouge cramoisi, qui passe immédiatement au jaune.

La solution sulfurique de molybdate de soude donne une coloration verte intense, puis brune, puis rougeâtre.

La solution sulfurique de sélénite de soude donne une teinte rouge très fugace, devenant rose durable.

La solution de narcotine traitée par l'eau de chlore ou l'hypochlorite de soude se colore en vert jaunâtre disparaissant, et par addition d'ammoniaque elle devient jaune brun.

Narcéine. — Très peu soluble dans l'eau, soluble dans l'alcool, insoluble dans l'éther, légèrement soluble dans la potasse faible.

Les réactifs généraux de la narcéine sont sensiblement les mêmes que ceux de la morphine.

L'acide sulfurique très concentré la colore immédiatement en brun, puis en jaune.

La solution sulfurique de molybdate de soude produit avec la narcéine une coloration jaune brun.

L'acide azotique la colore en jaune.

L'acide sulfurique en présence de nitrite de potassium donne une coloration vert brun.

L'eau iodée colore la narcéine en bleu magnifique.

L'iodure double de zinc et de potassium produit lentement un précipité cristallin, qui, au bout de douze à vingt-quatre heures, prend une belle teinte bleue.

L'eau de chlore ou l'hypochlorite de soude ne colorent pas la solution de narcéine, mais, par addition d'ammoniaque, il se produit une coloration rouge orange.

Papavérine. — Insoluble dans l'eau, soluble dans l'alcool et l'éther, insoluble dans la potasse.

Elle précipite les réactifs généraux de la morphine.

L'acide sulfurique colore la papavérine en bleu violet au bout d'un certain temps.

La solution sulfurique de molybdate de soude donne une coloration violette.

La solution sulfurique de sélénite de soude la colore en violet devenant bleu, teinte de bleu de Prusse.

La solution sulfurique de vanadate d'ammonium donne une teinte vert bleu.

La solution sulfurique d'acide titanique la colore en vert faible.

L'eau de chlore, l'hypochlorite de soude, colorent la solution de papavérine en jaune verdâtre, qui se trouble en devenant jaune, puis jaune brun rougeâtre. Par l'addition d'ammoniaque, la teinte de la liqueur se fonce en même temps qu'il se forme un précipité brun noir à reflets violacés.

Thébaïne. — Insoluble dans l'eau et la potasse, soluble dans l'alcool et l'éther.

La thébaïne est précipitée par la plupart des réactifs généraux.

L'acide sulfurique dissout la thébaïne en produisant une coloration rouge foncé.

L'acide azotique donne une teinte rouge plus jaune.

Les autres réactifs à base d'acide sulfurique produisent également des teintes rouge foncé.

L'eau de chlore, l'hypochlorite de soude colorent la solution de thébaïne en vert jaune faible, et l'ammoniaque produit une coloration rouge.

Ces nombreuses réactions, que j'ai vérifiées, ne peuvent toutes servir à des recherches microchimiques. L'action intense de l'acide sulfurique sur les tissus végétaux ne permet pas l'emploi de réactions nécessitant, pour se produire, l'intervention de la chaleur, ou d'un temps trop long en présence d'acide sulfurique concentré.

Un autre inconvénient provient de ce fait que, parfois, les réactions *in vitro* et *in cellulâ* ne sont pas semblables. La présence dans la cellule d'autres alcaloïdes et des différents produits cellulaires modifie quelquefois la réaction de l'alcaloïde que l'on veut y caractériser. Dans certains cas, la teinte obtenue résulte, d'une manière prépondérante, de l'une des différentes colorations produites par le réactif sur tous les produits cellulaires. Ainsi, la réaction si caractéristique de la morphine avec le perchlorure de fer ne peut être obtenue, par suite de la présence de l'acide méconique qui prend avec ce réactif une coloration rouge intense persistant très longtemps. D'autres fois, plusieurs teintes se produisant simultanément et avec des intensités à peu près égales, la coloration qui apparaît résulte du mélange de ces diverses teintes. Quelques réactifs présentent cette particularité. Dans d'autres cas encore, la coloration que l'on obtient est une coloration nouvelle, produite par la présence simultanée d'un autre alcaloïde ou d'un principe cellulaire. Par exemple, la solution sulfurique de sélénite de soude colore la morphine en beau vert. Mais si, auparavant, on ajoute à cette solution un peu de narcotine, qui ne la colore pas, alors, au lieu d'une teinte verte, on obtient avec la morphine une coloration rouge orange, qui se produit également avec ce réactif dans les vaisseaux laticifères.

Les observations concernant les alcaloïdes dans le *Papaver somniferum* même sont très peu nombreuses.

Aubergier (¹), à la suite de ses recherches sur la possibilité de récolter l'opium en France, appela l'attention sur ce fait, que les capsules de Pavot pour l'usage pharmaceutique devaient être récoltées au moment où elles prennent une couleur intermédiaire

---

(¹) Dorvault, *L'Officine*, édition 1880, p. 682.

entre le vert et le jaune fauve, c'est-à-dire avant leur maturité complète.

Decharme (1), qui a cultivé le Pavot de 1855 à 1862 au point de vue de la récolte de l'opium, a remarqué que la teneur en morphine de l'opium diminuait lorsque celui-ci se desséchait lentement.

Adrian (2) conteste l'existence de la morphine dans les capsules de Pavot.

Quant à la graine, la question est également très controversée. Pour certains auteurs, les semences ne sont pas narcotiques, tandis que d'autres prétendent y avoir trouvé de la morphine (3). Meurein la localise dans l'épisperme (4).

Les divers renseignements fournis par les pharmacologistes sur le Pavot sont très vagues, parfois contradictoires, et il était intéressant de voir si la microchimie ne permettrait pas d'élucider la question des alcaloïdes de cette plante.

L'exposé qui suit n'est que le commencement de cette longue étude.

Le *Papaver somniferum* appartient à cette catégorie de plantes vénéneuses qui, très jeunes, ne sont pas toxiques et ne le deviennent qu'au cours de la végétation (5).

Quand le Pavot devient-il réellement toxique? Il est difficile de préciser exactement le moment. La plantule, haute de quelques centimètres, ne donne aucune des réactions de la morphine, et il faut attendre qu'elle ait atteint une certaine taille pour y découvrir cet alcaloïde.

Si l'on étudie une plante ayant déjà quatre à cinq feuilles assez développées, et dont la hauteur peut être de 10 à 15 centimètres, on remarque que ce jeune Pavot possède déjà un latex blanchâtre, et ce latex contient de la *morphine*. Il précipite abondamment par l'iodure de potassium iodé, l'iodure double de bismuth et de potassium, l'iodure double de cadmium et de potassium, l'iodure double de mercure et de potassium, l'acide phosphomolybdique ; il réduit l'acide iodique, se colore en rouge brun foncé par la solution sulfurique d'acide titanique, et en violet intense par la solution sulfurique de méthylal.

---

(1) FLUCKIGER et HANBURY, *Histoire des drogues d'origine végétale*, édit. 1878, p. 107.

(2) ADRIAN, *Journ. de pharm.*, 1867, VI-222.

(3) DIETERICH, *Sur la proportion de morphine contenue dans les fleurs de coquelicots, dans les têtes et les semences de Pavots.* (HELFENBERGER ANNALEN, 1887.)

(4) DORVAULT, *L'Officine*, édit. 18[illegible]0, p. 682.

(5) CH. CORNEVIN, *Des plantes vénéneuses et des empoisonnements qu'elles déterminent*, p. 3.

La localisation dans l'épiderme de cette jeune plante ne se montre pas nettement encore.

Au point végétatif et dans les radicelles, les réactifs généraux donnent des précipités, mais les résultats obtenus avec les réactifs spéciaux sont plutôt négatifs. Ils ne correspondent aux réactions d'aucun des principaux alcaloïdes du Pavot. De même, dans les petites racines, on observe parfois de longues cellules très minces, vaisseaux laticifères en voie de formation, non encore réunis au système laticifère principal, et le contenu de ces cellules précipite également par l'iodure de potassium iodé, etc., sans donner les réactions de la morphine.

Que faut-il en inférer? Doit-on admettre un nouvel alcaloïde?

M. L. Errera, sous la direction duquel ce travail a été commencé, a bien voulu appeler mon attention sur ce fait très important, que les *peptones* précipitent également par tous les réactifs généraux des alcaloïdes, et à peu près de la même manière. Ne serait-ce pas à des corps se rapprochant des peptones que seraient dus les précipités obtenus au point végétatif et dans les jeunes cellules laticifères?

A mesure que le Pavot grandit, son latex devient de plus en plus abondant, et les canaux laticifères circulent dans toute la plante, présentant en certains endroits des anastomoses nombreuses qui les mettent en communication les uns avec les autres.

C'est lorsque le Pavot a terminé sa croissance et qu'il commence à emmagasiner dans les graines les matières grasses et albuminoïdes qui serviront de premiers aliments aux jeunes plantes lors de la germination, que la quantité d'alcaloïde est la plus considérable dans la plante. En ce moment, les laticifères sont gorgés de suc, et ce latex donne avec intensité les réactions des alcaloïdes.

Dans cette plante adulte, si l'on examine au microscope la racine, on y remarque des laticifères très abondants dans le parenchyme sous-épidermique. Ils ont une tendance à se localiser sous l'épiderme. Leur parcours entre les cellules du parenchyme est sinueux. Ils présentent entre eux de nombreuses anastomoses et s'étendent très loin vers l'extrémité des petites racines.

Près du sommet de la racine, ils forment un véritable réseau, mais à partir du collet leur disposition se modifie. Ils s'organisent en autant de séries que la tige comporte de faisceaux fibro-vasculaires, et dans tout le trajet de ces faisceaux, ils restent localisés dans la partie libérienne entre les tubes criblés. Chaque faisceau renferme des laticifères, et, à l'insertion des feuilles, ils accompagnent les faisceaux dans le parenchyme de celles-ci, dans lequel ils se ramifient et présentent de nombreuses anastomoses.

Dans toute la tige, les canaux laticifères ont un parcours presque rectiligne, suivant la direction de l'axe de la plante.

Dans le pédoncule de la fleur, qui est recouvert d'un petit nombre de poils pluricellulaires très espacés, tandis que la tige est complètement glabre, la disposition des faisceaux reste la même; mais, au point d'insertion des sépales et des pétales, ils envoient des branches accompagnées de laticifères vers ces parties de la fleur, dans lesquelles ces laticifères pénètrent.

A la zone d'insertion des étamines, la même disposition a lieu, seulement les laticifères ne semblent pas pénétrer dans ces organes: les vaisseaux annelés seuls y sont très visibles. Dans la capsule, à la partie inférieure, le nombre des faisceaux se réduit; on les trouve en nombre égal au nombre des cloisons, et situés au point de jonction de ces cloisons avec la paroi de la capsule. Leur trajet suit alors un nombre de lignes méridiennes égal au nombre des cloisons. Celui-ci est très variable; il est toujours pair et est fonction du diamètre de la capsule.

Ces faisceaux méridiens s'étendent jusqu'à la partie supérieure du fruit et vont se terminer sous les stigmates.

Ainsi, en résumé, dans la capsule du *Papaver somniferum*, il y a autant de faisceaux primaires renfermant dans leur zone libérienne de gros laticifères qu'il y a de cloisons. Ils vont directement de la base au sommet, sans présenter d'anastomose directe entre eux. De ces faisceaux primaires partent de distance en distance, en direction perpendiculaire, des faisceaux secondaires qui se ramifient à l'infini, s'anastomosant entre eux et avec les branches des faisceaux secondaires partant des faisceaux primaires voisins.

Les *canaux laticifères* sont, sans contredit, le siège principal des alcaloïdes dans les Papavéracées; c'est ce qui explique cette longue exposition de la localisation et de la distribution de ces canaux dans la plante. Que l'on examine microchimiquement leur contenu, soit dans la racine, la tige, les feuilles, la fleur ou la capsule, toujours le latex renferme des alcaloïdes. Il précipite abondamment par tous les réactifs généraux, il réduit l'acide iodique, et l'iode mis en liberté le colore en jaune brun; il précipite du bleu de Prusse du mélange de ferricyanure de potassium et de perchlorure de fer. La réaction violette avec le méthylal se produit d'une façon très nette au bout de très peu de temps, après avoir produit une teinte jaune, et persiste quelque temps. Ce réactif se prépare en mélangeant cinq gouttes de méthylal à 1 centimètre cube d'acide sulfurique concentré. Il se conserve assez longtemps. La solution sulfurique d'acide titanique à 2 °/₀ produit une coloration rouge violet vineux intense, identique à celle que donne la morphine pure.

Ces réactions ne permettent pas de douter de la présence, dans les laticifères, de la *morphine*.

La solution sulfurique de sélénite de soude, au lieu de donner la teinte verte de la morphine ou de la codéine, produit une coloration rouge orange, qui a été renseignée plus haut comme étant due au mélange de morphine et de narcotine. Or les réactions précédentes ne laissant pas de doute quant à la présence de la morphine, on peut inférer de là avec une grande probabilité que la *narcotine* existe également dans le latex; d'autant plus que le chlorure de palladium et le chlorure d'iridium précipitent dans le latex, et ces deux corps sont deux réactifs de la narcotine, le palladium ne précipitant ni la morphine ni la codéine, et l'iridium ne donnant qu'un faible précipité avec ces corps. Toutefois, pour pouvoir assurer d'une manière catégorique la présence de la narcotine, il faudrait obtenir une nouvelle réaction plus certaine et plus spéciale.

La recherche de la *thébaïne*, qui cependant donne des colorations intenses avec plusieurs réactifs, n'a fourni aucun résultat satisfaisant, et aucune des réactions employées n'a permis d'en soupçonner la présence.

Quant à la *papavérine* et à la *codéine*, leurs réactions dans la plante ne sont pas suffisamment nettes; plusieurs colorations obtenues avec certains réactifs rendent probable leur présence.

La teinte jaune que l'on observe immédiatement après l'emploi du méthylal et de quelques autres réactifs à base d'acide sulfurique qui colorent la *narcéine* en jaune, permet de supposer l'existence de cet alcaloïde dans le latex. Mais pour affirmer sa présence, il faudrait pouvoir obtenir la coloration bleue de ce corps par l'eau iodée, ou la réaction par l'iodure de zinc et de potassium.

On admet généralement que la morphine se trouve en dissolution dans le latex à l'état de méconate. Cette opinion est sans doute fondée. Du moins l'*acide méconique* existe-t-il dans le latex. Pour le déceler, il suffit de traiter la préparation microscopique par le perchlorure de fer, qui produit immédiatement avec ce corps une coloration rouge intense persistant longtemps. C'est cette réaction qui empêche d'obtenir la coloration bleue caractéristique de la morphine.

Les alcaloïdes n'existent pas seulement dans le latex. L'étude microchimique permet de déceler facilement une autre localisation, dans les *cellules épidermiques*.

L'*épiderme de la capsule* est formé de cellules très petites, à parois épaisses, dont le contenu donne toutes les réactions des alcaloïdes. Les résultats obtenus dans les cellules épidermiques coïncident avec ceux qui ont été obtenus dans les canaux laticifères. La teinte avec le méthylal est d'abord jaune vert intense et parfois même masque l'apparition de la teinte violette; celle-ci se montre petit à petit, très nettement dans certaines cellules, moins dans d'autres où la teinte jaune persiste. L'acide titanique colore les cellules épidermiques en jaune, puis en rouge brun.

L'acide méconique accompagne aussi la morphine dans les cellules de l'épiderme de la capsule. Quand celle-ci est encore jeune, la réaction de l'acide méconique est très intense, et elle perd de son intensité au fur et à mesure que la capsule mûrit, pour disparaître alors, tandis que la morphine persiste encore. Lorsque le fruit est à maturité, le perchlorure de fer donne seulement une coloration verte plus ou moins noire, sans que jamais on ne remarque la teinte bleue que devrait donner la morphine.

Les cellules épidermiques du *pédoncule*, de la *tige,* des *feuilles,* renferment également des alcaloïdes, mais en quantités beaucoup moindres.

Les cellules externes des *stigmates* sont, pour ainsi dire, gorgées d'alcaloïdes.

Dans les *poils* du pédoncule, il y a surtout localisation dans les cellules de la base.

Vers la partie inférieure de la tige, la proportion d'alcaloïdes diminue graduellement dans les cellules épidermiques, pour disparaître à la base de la plante; et dans les cellules épidermiques de la *racine*, on n'en trouve plus.

Le *point végétatif,* étudié au point de vue de la présence de la morphine, n'a donné aucun résultat.

En ce qui concerne la *graine* du Pavot, les recherches microchimiques n'ont fait découvrir la présence d'aucun alcaloïde. Aucune préparation n'a donné à l'intérieur de la graine les réactions de la morphine. Toutefois, dans certains cas, on obtient ces réactions; mais alors elles se produisent en dehors de la graine, et toujours au point d'attache de celle-ci à la cloison de la capsule. C'est donc en quelque sorte accidentellement que la morphine s'y rencontre, provenant probablement de transsudations du latex du placenta. Ce fait n'est pas constant dans toutes les graines, et la plupart même ne présentent pas ces traces d'alcaloïdes.

Lorsque le Pavot a mûri ses graines, il dépérit lentement; les feuilles se fanent, jaunissent, la capsule devient jaune brun, en même temps que le latex disparaît, et cette disparition est accompagnée de celle des alcaloïdes. C'est dans les cellules épidermiques de la capsule que les alcaloïdes persistent le plus longtemps; mais on finit également par ne plus les y retrouver.

Que deviennent-ils et quel est leur rôle dans le *Papaver somniferum?*

Doit-on les considérer comme des aliments de réserve, ou bien faut-il les regarder comme des déchets de l'activité protoplasmique (¹)? Leur disparition à la fin de la végétation est-elle une simple utilisation par la plante ou une destruction par oxydation?

Le rôle que jouent les alcaloïdes durant la croissance de la plante paraît être un rôle de protection (²), de défense contre la voracité des animaux herbivores qui sont sensibles à l'action de la morphine. Le Pavot ainsi protégé peut se développer avec moins de danger, et mûrir ses graines. Celles-ci sont petites, blanchâtres ou gris bleuâtre, et se sèmeront sur le sol où elles seront presque invisibles, même pour les oiseaux, qui en sont très friands.

L'exposé qui précède n'est qu'une ébauche bien incomplète de l'histoire des alcaloïdes du Pavot; j'espère continuer l'été prochain cette étude et la rendre plus approfondie.

(¹) L. ERRERA, MAISTRIAU et CLAUTRIAU, *Premières recherches sur la localisation et la signification des alcaloïdes dans les plantes.* (JOURN. DE MÉD. DE BRUXELLES, 1887, et ANN. DE LA SOC. BELGE DE MICROSC., t. XII, Mémoires.)

(²) L. ERRERA, *Efficacité des structures défensives des plantes.* (BULL. DE LA SOC. ROY. BOT. DE BELGIQUE, t. XXV, 1886.)

L'AZOTE DANS LES CAPSULES DE PAVOT

PAR

G. CLAUTRIAU (¹)

Absorbé dans le sol sous forme de composés nitriques ou ammoniacaux, parfois aussi emprunté directement à l'état libre à l'atmosphère, l'azote est assimilé par la plante et entre dans un certain nombre de combinaisons organiques. Parmi ces composés azotés, les uns se rencontrent d'une manière générale dans tous les organismes, constituant les matières albuminoïdes, éléments essentiels de toute vie, tandis que d'autres, moins répandus, sont spéciaux à certains groupes de plantes, et même à certaines plantes.

Les différentes fonctions chimiques des combinaisons organiques azotées peuvent, pour la plupart, se rencontrer chez les végétaux. On y trouve des amines, des acides amidés, des uréides, des composés cyanogénés, des composés aromatiques, appartenant aux groupes de la benzine, de l'anthracène, de la pyridine, de la quinoléine, etc. Mais tous ne sont pas également communs; et ils peuvent jouer des rôles très divers dans l'économie du végétal. Un acide amidé, par exemple, l'asparagine, aurait, d'après certains auteurs, une signification importante dans la synthèse des matières albuminoïdes, et constituerait le premier stade de l'assimilation de l'azote organique.

A côté de l'asparagine, il existe un certain nombre de combi-

---

(¹) Cette note a paru dans le *Bulletin de la Société belge de microscopie*, t. XVIII, p. 80, 1892.

naisons azotées dont le rôle physiologique est encore très peu connu. Certaines, sans doute, doivent constituer des déchets de l'activité protoplasmique, comparables à l'urée et aux autres corps azotés d'excrétion des animaux. Mais tous sont-ils des rebuts? La solanine, glycoside à radical alcaloïdique, de la série pyridique, qui existe chez un certain nombre de plantes, semble, d'après diverses observations, servir à la nutrition. Est-elle entièrement assimilée, ou bien la plante n'utilise-t-elle que la molécule de glycose unie à la molécule d'alcaloïde?

En ce qui concerne les alcaloïdes surtout, la question est loin d'être élucidée. Elle présente cependant un intérêt considérable, car le nombre de ces corps déjà connus actuellement est très grand, et il augmentera certainement encore de beaucoup, lorsque l'on aura examiné d'une manière complète la grande quantité de plantes qui n'ont été jusqu'à présent l'objet d'aucune recherche chimique, ou qui ont été analysées trop sommairement.

Pourquoi tant de plantes forment-elles des alcaloïdes? Sont-ils des produits transitoires nécessaires pour la synthèse de combinaisons plus complexes, comme quelques auteurs sont portés à l'admettre? Ou bien, ne sont-ils que des déchets, que la plante peut utiliser ensuite comme moyen de protection contre la voracité des animaux?

Mais avant de pouvoir tirer des conclusions générales à cet égard, il est nécessaire de connaître d'une manière exacte la façon dont se comportent les alcaloïdes chez les diverses plantes qui en forment, et de déterminer les conditions qui modifient leur production. Car de grandes différences s'observent dans la façon d'être des alcaloïdes, selon les plantes. Tantôt l'alcaloïde existe dans la graine et tantôt celle-ci n'en renferme point. Parfois la plante en contient beaucoup, parfois il n'apparaît qu'au cours de la végétation; et si, dans certains cas, on le retrouve intact dans les tissus morts, dans d'autres, au contraire, il disparaît pour la plus grande partie dès la maturité de la plante.

La quantité en est très variable. Parmi les plantes les plus riches en alcaloïdes, on peut citer en première ligne le Pavot, *Papaver somniferum*, chez lequel j'ai pu déterminer microchimiquement, outre la localisation, la marche des alcaloïdes [1]. Les graines mûres n'en contiennent pas, et il ne s'en forme ni pendant la germination, ni même pendant la première période de la végétation. Il faut que la plante ait acquis un certain développement, atteigne une hauteur d'environ 10 centimètres, pour que l'on puisse constater leur présence. A partir de ce moment, la richesse en alcaloïdes va en croissant jusqu'à ce que la capsule arrive à son entier développement. Alors, durant toute la maturation des graines, les alcaloïdes diminuent petit à petit, et lorsque la plante, ayant mûri ses semences, se dessèche, tous les alcaloïdes ont presque complètement disparu.

Ici, les alcaloïdes sont donc liés à toute la vie de la plante adulte, et le fait de leur disparition lors de la maturité des graines permet de supposer à priori qu'il pourrait exister une certaine relation entre eux et la maturation des semences. Les alcaloïdes ne serviraient-ils pas à la formation des matières albuminoïdes des graines?

Il était intéressant de vérifier expérimentalement cette supposition. Dans ce but, il s'agissait de voir ce que devenaient les alcaloïdes dans des capsules séparées de la plante, coupées peu de temps après la fécondation des ovules. L'azote des alcaloïdes ne deviendra-t-il pas de l'azote albuminoïde? La capsule peut parfaitement bien mûrir ses graines, ainsi détachée de la plante, et ce fait est connu depuis assez longtemps [2]. En opérant de cette manière, on supprimait toutes les causes d'erreur pouvant provenir d'un apport plus ou moins grand de matériaux azotés, assimilables ou non, des feuilles à la capsule. Celle-ci seule devait donc fournir aux graines tout l'aliment nécessaire à leur développement complet, et comme elle renferme de l'azote sous ses formes albuminoïde, nitrique et alcaloïdique, des analyses chimiques spéciales pour chacune de ces formes devaient permettre de constater les différences survenues dans leurs quantités respectives, au cours de la maturation.

---

[1] *Recherches microchimiques sur la localisation des alcaloïdes dans le* Papaver somniferum. (MÉM. DE LA SOC. BELGE DE MICROSC., t. XII, 1888.)

[2] PFEIFFER, *Jahrbücher für wissenschaftliche Botanik,* Band VIII, p. 510, 1872.

En se basant sur ces considérations, les expériences ont été établies de la façon suivante :

Dix-huit capsules de *Papaver somniferum album*, provenant d'une même culture de plantes vigoureuses et aussi semblables que possible, ont été cueillies peu après la chute des pétales. Chaque pédoncule a été coupé sous l'eau à 5 centimètres environ de la capsule, et toutes les capsules ainsi traitées sont restées quelque temps baignant dans l'eau afin de laisser écouler l'excès de latex. Quand cet écoulement eut cessé, toutes les surfaces de section furent débarrassées du latex coagulé qui pouvait encore y être adhérent, et l'on partagea les capsules en trois lots identiques de six, devant servir à trois séries d'expériences.

La *première série*, après avoir été pesée, a été immédiatement soumise à l'analyse chimique d'après le procédé indiqué plus loin.

La *deuxième série*, pesée, a été abandonnée à l'air, en laissant la dessiccation s'opérer lentement, ce qui permettait, pendant un jour ou deux, la continuation de certains échanges intimes, et durant toute la dessiccation, l'action de la lumière et de l'oxygène de l'air.

La *troisième série* enfin, pesée également, a été placée dans des conditions lui permettant de continuer à vivre et à mûrir ses graines. Pour cela, les capsules reposaient sur une mousseline tendue au-dessus d'un cristallisoir contenant de l'eau distillée, dans laquelle plongeait l'extrémité des pédoncules. Le tout était recouvert d'une grande cloche de verre pour maintenir l'atmosphère humide. L'expérience, commencée le 9 juillet, a été arrêtée le 28 du même mois. Les capsules avaient pris une teinte grise, et leur volume avait diminué. De plus, par suite d'une trop grande humidité de l'atmosphère, des mycéliums commençaient à se développer sur les pédoncules et formaient quelques taches sur certaines capsules.

L'analyse chimique de ces trois séries a été faite de la même manière. D'abord on commençait par séparer complètement les graines des capsules. Cette opération présentait quelques difficultés pour la première série : les graines, très jeunes, étaient très adhérentes aux placentas, et en les détachant, on emportait parfois de petits fragments des tissus placentaires, un peu imprégnés de latex. La séparation des graines terminée, les capsules étaient découpées en petits morceaux et mises en macération dans de l'alcool absolu contenant 2 °/₀₀ d'acide tartrique. Ce traitement par l'alcool tartrique était répété à plusieurs reprises, à froid d'abord, puis à chaud, jusqu'à ce que l'alcool passant incolore à la filtration ne laissât plus de résidu à l'évaporation. Les liqueurs alcooliques ont alors été évaporées au bain-marie pour chasser tout l'alcool, et le résidu a été repris par de l'eau distillée pour séparer surtout la chlorophylle. Après filtration, le liquide aqueux fut de nouveau évaporé au bain-marie jusqu'à consistance de sirop épais, qui fut épuisé ensuite par de l'alcool absolu à chaud, pour dissoudre les tartrates d'alcaloïdes et les nitrates. La séparation de ces corps a été obtenue en filtrant et évaporant la liqueur alcoolique, reprenant le résidu de l'évaporation par de l'eau distillée acidulée par de l'acide chlorhydrique, et précipitant ensuite les alcaloïdes par un excès d'acide phosphomolybdique. Le précipité des phosphomolybdates d'alcaloïdes a été recueilli sur un petit filtre taré, lavé à l'eau acidulée, puis à l'eau pure, desséché et pesé.

Dans la liqueur débarrassée des alcaloïdes et à laquelle on a ajouté les eaux de lavage du précipité de phosphomolybdates, les nitrates ont été dosés sous forme de bioxyde d'azote, par le procédé de Schloesing.

Le dosage des matières albuminoïdes a été fait par le procédé de Will et Varrentrapp, en opérant sur le résidu séché et pulvérisé du traitement par l'alcool tartrique, lequel ne dissout pas les substances protéiques.

Les semences, de leur côté, ont été soumises aux mêmes traitements et à des dosages analogues par les mêmes procédés; et pour les trois séries en expérience le mode opératoire a été absolument identique. L'eau distillée dans laquelle baignaient les pédoncules des capsules de la 3^e^ série a été évaporée, et le faible résidu, recueilli avec soin, a été ajouté aux capsules.

Le dosage de l'azote des alcaloïdes n'a pu être fait par suite des faibles quantités de matière, et les chiffres donnés dans le tableau ci-après représentent la quantité d'alcaloïdes, calculée en morphine d'après le poids des précipités de phosphomolybdates. Il y a de ce chef une légère erreur, car le précipité obtenu par l'acide phosphomolybdique ne renferme pas uniquement le sel de morphine, mais bien le mélange des sels des divers alcaloïdes du Pavot. Toutefois, cette erreur ne peut être considérable, d'abord parce que la majeure partie des alcaloïdes doit être effectivement ici de la morphine, et ensuite parce que les poids d'une molécule de phosphomolybdate de morphine, de codéine, de papavérine, etc., sont assez voisins. Divers essais préliminaires ont été faits avec de la morphine pure pour vérifier le poids du phosphomolybdate; et en outre, dans des expériences ultérieures, le dosage par l'acide phosphomolybdique a été également contrôlé par un dosage au moyen de l'iodure double de mercure et de potassium.

En ce qui concerne les nitrates, on pourrait objecter que l'alcool absolu ne dissout pas le nitrate de potassium et que, par suite, il aurait fallu surtout les doser dans les résidus du traitement par l'alcool tartrique. Mais, ainsi que des essais préliminaires l'ont démontré, tous ces résidus ne renfermaient plus de nitrates, et il faut admettre que la grande quantité d'alcool employé, eu égard aux faibles proportions de nitrates en présence, a donc entraîné en solution la totalité de ces sels.

Les chiffres obtenus dans ces différents dosages sont indiqués dans le tableau suivant :

	1re SÉRIE.		2e SÉRIE.		3e SÉRIE.	
POIDS FRAIS.	172 grammes.		175 grammes.		179 grammes.	
	Semences.	Capsules.	Semences.	Capsules.	Semences	Capsules.
Poids sec	$1^{gr}906$	$13^{gr}21$	$2^{gr}072$	$14^{gr}50$	$4^{gr}07$	$11^{gr}10$
Azote albuminoïde .	0,1155	0,2840	0,0795	0,2565	0,1069	0,2070
Azote nitrique . .	0,0076	0,1087	0,0021	0,0181	0,0021	0,0129
Alcaloïdes . . .	0,0039	0,0817	0	0,0787	traces?	0,0130

On peut constater, d'après ces résultats, que la quantité d'alcaloïdes dans la capsule, qui est de 0,0817 dans la 1re série, tombe à 0,0787 dans la 2e série où la vie a pu se prolonger quelques jours, et qu'elle n'est plus que de 0,0130 dans la 3e série où les phénomènes vitaux ont pu continuer à se manifester assez longtemps. On peut affirmer aussi que les alcaloïdes n'existent pas dans les graines. Dans la 1re série on trouve, il est vrai, 0,0039 d'alcaloïdes, mais ceux-ci proviennent de la capsule lors de la séparation des graines, ainsi qu'il a été dit plus haut. La capsule étant complètement sèche dans la 2e série lors de la séparation des graines, celle-ci a pu se faire d'une façon complète et facile. Aussi n'a-t-on pas retrouvé ici la moindre trace d'alcaloïde. Dans la 3e série, on a obtenu un très léger trouble qui, recueilli sur un filtre taré, n'a pas donné de différence de poids appréciable — à peine un dix-milligramme. Ce trouble était dû probablement à des produits sécrétés par les mycéliums déja mentionnés, et dont l'apparition a fait interrompre l'expérience, qui était toutefois, dès ce moment, concluante. Car les graines avaient mûri. Leur poids avait plus que doublé et elles contenaient une proportion d'huile normale, tandis que dans la 1re série il n'y avait aucune trace de matière grasse.

L'azote nitrique, ainsi que l'on devait s'y attendre, diminue rapidement. Tout ce qui peut encore être assimilé, l'est immédiatement. Aussi voyons-nous que les quantités restant dans les deux dernières séries sont sensiblement les mêmes; ce qui permet de supposer, ou que ce reste était dû à des nitrates situés en dehors des endroits où se fait l'assimilation, ou qu'il est constitué par d'autres combinaisons oxygénées de l'azote, que la plante ne peut ou ne pouvait assimiler dans les conditions de notre expérience.

Quant aux matières albuminoïdes des capsules, on voit qu'elles vont en diminuant de la 1re a la 3e série; et il n'y a pas eu d'accroissement de la quantité des albuminoïdes dans le graines.

On peut se rendre compte, d'après ce tableau, que si la proportion d'alcaloïde va en diminuant, la perte en azote qui provient de cette disparition n'est pas compensée par un accroissement correspondant d'azote albuminoïde, et la quantité totale d'azote combiné que renferment les capsules décroît à la fin de la végétation, ainsi que le montrent les chiffres suivants :

1re série.	Azote albuminoïde.	Semences	0,1155
		Capsules.	0,2840
	Azote nitrique	Semences	0,0076
		Capsules.	0,1087
		Total.	0,5158

Alcaloïdes 0,0856, renfermant 4.90 °/o environ d'azote.

2e série	Azote albuminoïde.	Semences	0,0795
		Capsules.	0,2565
	Azote nitrique	Semences	0,0021
		Capsules.	0,0181
		Total.	0,3562

Alcaloïdes 0,0787, renfermant 4.90 °/o environ d'azote.

3e série	Azote albuminoïde.	Semences	0,1069
		Capsules.	0,2070
	Azote nitrique	Semences	0,0021
		Capsules.	0,0129
		Total.	0,3289

Alcaloïdes 0,0130, renfermant 4.90 °/o environ d'azote.

D'après ces chiffres, la faible quantité d'azote des alcaloïdes ne paraît être d'aucune nécessité pour la formation des matières protéiques des graines.

Mais une autre conclusion s'impose, en consultant ces chiffres, qui constituent en somme le bilan de l'azote dans la capsule. On constate que *ce bilan clôture par un déficit assez considérable.* Ce déficit est peut-être même un peu trop considérable ; car il y a lieu de faire remarquer que dans la 3e série, une partie de la perte en azote peut être attribuée aux mycéliums qui, vers la fin de l'expérience, commençaient à envahir les capsules, ainsi que cela a été signalé plus haut. Peut-être aussi le chiffre trouvé pour l'azote albuminoïde des semences de la 1^{re} série est-il trop fort. Je suis porté à croire qu'il y a là une légère erreur d'analyse, mais la vérification n'a pu être faite, par suite de la trop petite quantité de substance.

Pour vérifier les résultats obtenus et s'assurer que les mycéliums n'étaient pas l'unique cause de la perte d'azote, ces expériences ont été reprises avec un nouveau lot de capsules plus fortes, plus âgées que celles des expériences précédentes (la saison s'avançant), mais qui toutefois n'avaient pas encore terminé leur croissance.

Dix-huit capsules traitées de la même manière que dans les recherches précédentes, mais en laissant des pédoncules plus longs, de 12 $^1/_2$ centimètres environ, ont été réparties en deux séries seulement de neuf capsules, la 1re série correspondant à la 1re série des autres expériences, et la 2^{e} série correspondant à la 3^{e} série précédente. Cette 2^{e} série a été disposée de façon à éviter tout développement de mycéliums. Les capsules, non recouvertes d'une cloche de verre, ont été plus espacées, et les pédoncules étant beaucoup plus longs et ne plongeant que très peu dans l'eau distillée, l'air pouvait circuler très librement, empêchant ainsi les capsules de devenir humides. L'expérience, commencée le 7 août, a été arrêtée dans les premiers jours de septembre.

Dans les recherches précédentes, les dosages avaient été faits par la méthode de Will et Varrentrapp, et par le procédé de Schloesing. Mais on peut objecter avec raison que ces deux méthodes, même combinées, ne permettent pas de doser tous les composés azotés. Il en est, et de ceux qui existent dans les végétaux, dont on ne peut déterminer de la sorte la teneur en azote. Aussi, pour plus de garantie, est-il nécessaire de doser l'azote total par la seule méthode certaine connue : la méthode de Dumas. Car le fait que la chaux sodée met en liberté une quantité d'ammoniaque plus faible à la fin de la végétation, n'implique pas nécessairement une disparition d'azote, et l'on pourrait l'expliquer en admettant qu'une partie des corps protéiques s'est transformée en composés inaptes à dégager de l'ammoniaque sous l'action de la chaux sodée.

Donc, avant de traiter les tissus des capsules et les graines, dans les deux séries, par l'alcool tartrique, on a prélevé quelques grammes de matière pour y doser l'azote total par le procédé de Dumas. Puis les albuminoïdes ont été soumis au procédé par la chaux sodée et des alcaloïdes ont été précipités par l'iodure double de mercure et de potassium.

Les nitrates n'ont pas été dosés.

Le tableau suivant indique les chiffres obtenus dans ces divers dosages :

	1^{re} SÉRIE.		2^{e} SÉRIE.	
POIDS FRAIS.	265 grammes.		268 grammes.	
	Semences.	Capsules.	Semences.	Capsules.
Poids sec	$9^{gr}80$	$26^{gr}60$	$10^{gr}97$	$22^{gr}40$
Azote total.	0,4782	0,8875	0,6165	0,5869
Azote albuminoïde . . .	0,3714	0,4461	0,4305	0,3522
Alcaloïdes	0	0,2415	0	0,1124

Si nous additionnons dans chaque série les quantités trouvées pour les semences et les capsules, nous constatons que le poids sec, qui était dans la 1^{re} série de $9,80 + 26,60 = 36^{gr}40$, tombe après la maturation, dans la 2^{e} série, à $10,97 + 22,40 = 33^{gr}37$, soit une diminution de 3,03 ou 8.3 %.

L'azote total dans la 1^{re} série est de $0,8875 + 0,4782 = 1^{gr}3657$, et dans la 2^{e} série il est de $0,6165 + 0,5869 = 1^{gr}2034$; par conséquent, une perte de $0^{gr}1623$ d'azote a eu lieu, ce qui fait 11.8 %.

L'azote albuminoïde diminue également et tombe de 0,8175 à 0,7827.

Les alcaloïdes, outre leur absence complète dans les graines, ont subi une diminution de plus de moitié. Cette diminution a été plus considérable dans la première expérience ; mais il faut tenir compte qu'ici les capsules étaient plus âgées et renfermaient par conséquent beaucoup plus d'alcaloïdes. En outre, comme elles étaient moins éloignées de leur maturité, la durée des phénomènes vitaux a été plus brève et elles s'étaient desséchées avant la fin de l'expérience. Enfin, comme la maturation s'est faite dans l'air sec, les cellules épidermiques ont pu se dessécher plus tôt, abolissant ainsi leurs phénomènes vitaux et leurs transformations intimes; et nous savons par l'examen microchimique que l'alcaloïde est surtout accumulé dans les cellules épidermiques des capsules du Pavot.

Les principales conclusions que l'on peut déduire des expériences exposées plus haut sont les suivantes :

I. — Il n'y a pas lieu de considérer les alcaloïdes comme devant servir à la formation des matériaux azotés de la graine chez le Pavot.

II. — A la fin de la végétation, une partie de l'azote organique de la plante disparaît.

Cet azote doit évidemment se dégager dans l'atmosphère, mais sous quelle forme? Ce point reste à résoudre, et je me propose de continuer l'étude de la question.

Bruxelles, Institut botanique.

LOCALISATION ET SIGNIFICATION
DES
ALCALOÏDES DANS QUELQUES GRAINES

PAR

G. CLAUTRIAU (¹)
ASSISTANT A L'INSTITUT BOTANIQUE
UNIVERSITÉ DE BRUXELLES.

I

Parmi les plantes à alcaloïdes, il en est, comme le *Papaver somniferum* et le *Nicotiana Tabacum*, dont les graines sont complètement privées de principe actif. Après avoir traité des coupes de ces graines par les divers réactifs généraux et spéciaux, après avoir eu soin, surtout, de faire des recherches microchimiques comparativement sur des coupes traitées par l'alcool tartrique à 5 °/₀ d'après la méthode indiquée par Errera (²), on doit conclure à l'absence complète de tout alcaloïde dans les semences de Pavot ou de Tabac.

A plusieurs reprises, des analyses chimiques de ces graines ont été faites, donnant des résultats contradictoires. Quelques auteurs

---

(¹) Ce travail a été publié dans les *Annales de la Société belge de microscopie*, t. XVIII, p. 35, 1894.

(²) L. Errera, *Sur la distinction microchimique des alcaloïdes et des matières protéiques.* (Mém. de la Soc. belge de microsc., t. XIII, 2ᵉ fasc., 1889.)

n'ont pas trouvé d'alcaloïde, tandis que d'autres affirment l'existence d'une quantité minime il est vrai, mais très appréciable, de morphine ou de nicotine.

Quelle est la cause de cette discordance? Elle est due à ce qu'il existe parfois, à la surface de certaines graines de Pavot, de petites quantités de latex riche en principe actif, transsudation des laticifères du placenta ou de la capsule venue accidentellement se concréter sur les semences. En outre, on peut également voir au microscope, adhérents aux graines de Pavot et de Tabac ou mélangés à celles-ci, de menus débris du fruit, débris renfermant des alcaloïdes. La morphine ou la nicotine que l'on avait cru extraire de ces graines, provenaient uniquement d'impuretés.

Mais beaucoup d'autres plantes ont des graines qui renferment des alcaloïdes. Chez quelques espèces, comme par exemple le *Datura Stramonium*, le *Conium maculatum*, le *Strychnos Nux vomica*, etc., c'est même la graine qui, proportionnellement, est la partie la plus riche en base organique. Néanmoins, on s'est peu occupé jusqu'à présent d'y déterminer exactement la localisation du principe actif. On s'est borné généralement à signaler sa présence, comme si l'alcaloïde se trouvait uniformément répandu dans toutes les parties.

Il n'en est cependant pas ainsi : il existe de véritables localisations dans les graines, et ces localisations ne suivent pas un type uniforme chez toutes les semences. Les différences sont très grandes d'une espèce à l'autre, et, comme nous le verrons, on peut dire que c'est dans les graines que la localisation du principe actif est le plus variable.

Atropa Belladona. — Datura Stramonium.
Hyoscyamus niger.

Chez ces trois espèces, la localisation de l'alcaloïde dans la graine se fait suivant le même type, avec cette seule différence que la couche renfermant l'alcaloïde est plus ou moins développée.

De ces trois plantes, la Belladone seule a été étudiée avec soin microchimiquement par De Wèvre (¹) en 1887, et par Anema (²) en 1892.

Le premier auteur, dans son travail, ne mentionne pas de recherche microchimique dans la graine. Anema a vérifié et confirmé les résultats de De Wèvre. En plus, il a examiné la semence; mais il n'a pu y déceler d'alcaloïde, et il dit à la page 54 de son travail : *Zaad. In het zaad werd geen alkaloïde gevonden.* Cette conclusion ne peut être admise, et contrairement à opinion d'Anema, l'alcaloïde existe dans la graine de Belladone, comme il se trouve également dans les semences de Stramoine et de Jusquiame qui servent depuis longtemps à l'extraction de l'atropine. L'erreur est due vraisemblablement à ce que l'auteur a recherché l'alcaloïde dans l'albumen et dans l'embryon, où il ne se trouve jamais. En effet, *l'alcaloïde existe uniquement dans une couche sous-tégumentaire située entre l'albumen et le tégument proprement dit de la graine.*

A la maturité, cette couche est très réduite, surtout chez l'*Atropa* et l'*Hyoscyamus*. Mais au cours du développement de la graine, elle joue un rôle très considérable.

Si l'on examine une coupe d'un ovule de *Datura* en voie de développement, quelque temps après la fécondation, on remarque un embryon de petite dimension placé excentriquement, entouré d'une étroite couche de cellules qui constitue l'albumen. Autour de cet albumen rudimentaire se trouve une assise très développée formée de nombreuses cellules riches en contenu, et que limitent les cellules du tégument, réduit à une seule couche périphérique.

C'est dans cette assise que se localise complètement tout l'alcaloïde, et à aucun stade du développement ni l'embryon ni l'albumen n'en renferment.

Cette assise à alcaloïde est l'assise nourricière de l'embryon et

---

(¹) A. DE WÈVRE, *Localisation de l'atropine.* (BULL. DES SÉANCES DE LA SOC. BELGE DE MICROSC., octobre 1887.)

(²) P. ANEMA, *De zetel der alkaloïden bij enkele narkotische planten.* Utrecht, J. G. Van Terveen en zoon, 1892.

de l'albumen. Dans ses cellules s'accumulent une grande quantité d'amidon, bleuissant par l'iode, et de matières albuminoïdes qui donnent une réaction intense par le réactif de Millon.

A mesure que l'albumen s'accroît, l'amidon disparaît de cette assise ainsi que les substances albuminoïdes, tandis que l'alcaloïde y persiste; et peu à peu, toutes les cellules se vident, se dessèchent et meurent, ne conservant que le principe actif qui ne semble pas diminuer en quantité. En même temps, l'accroissement considérable de l'albumen refoule cette assise et comprime ses cellules contre le tégument, de sorte que, à la maturité, ces cellules fortement comprimées semblent constituer une sorte de membrane dans laquelle se trouve inclus l'alcaloïde à l'état de sel facilement soluble dans l'eau. L'alcaloïde semble être combiné, au moins partiellement, à un acide organique qui se colore en jaune sous l'influence des alcalis. Beaucoup de graines, d'ailleurs, surtout celles à alcaloïdes, renferment de ces acides organiques colorables en jaune par les alcalis, dont l'étude chimique et physiologique est encore à faire.

Si l'on veut vérifier, sous le microscope, la localisation de l'alcaloïde dans une graine mûre de *Datura Stramonium*, il faut opérer de la façon suivante : On choisit une coupe dont le tégument est bien adhérent à l'albumen et on la place à sec sous le microscope. Puis, tout en examinant, on fait arriver lentement de l'iodure de potassium iodé. En opérant avec précaution, on voit l'assise soustégumentaire à alcaloïde se gonfler et se remplir d'un abondant précipité brun foncé, qui parfois peut devenir cristallin, comme dans les cellules riches en alcaloïde de la tige de Belladone. Sous l'action du réactif iodé, il n'y a pas de précipité caractéristique dans le tégument : l'albumen et l'embryon deviennent brun opaque, réaction due aux matières protéiques de réserve et non à un alcaloïde, ainsi que l'on peut s'en assurer par le traitement à l'alcool tartrique.

Si, au lieu d'opérer avec soin sous le microscope, on commence par passer à l'eau distillée la coupe de graine, ou si on la plonge directement dans une certaine quantité de réactif, on n'observe plus de localisation nette. Le simple lavage à l'eau distillée suffit pour débarrasser presque complètement la coupe de tout son alcaloïde — contenu à l'état de sel très soluble dans des cellules mortes, désorganisées. De même, en plongeant la coupe dans le réactif, le fin précipité qui se forme se mélange immédiatement au liquide, en même temps que s'émulsionnent dans celui-ci les corps gras provenant des cellules entamées par le rasoir. Ces gouttelettes grasses absorbent de l'iode et se colorent plus ou moins.

Dans les graines mûres de Stramoine, cette assise à alcaloïde est formée de cinq à six couches de cellules. Chez la Belladone et la Jusquiame, elle en renferme moins, ce qui la rend peu visible, mais cependant on peut, chez ces deux espèces, constater également la présence de l'alcaloïde dans cette assise et uniquement dans celle-ci. Les réactifs à employer sont : l'iodure de potassium iodé, l'iodure double de mercure et de potassium, et l'acide phosphomolybdique.

Conium maculatum.

La coniine existe en grande quantité dans le fruit du *Conium maculatum*, et l'on peut employer, pour la caractériser microchimiquement, l'iodure de potassium iodé, l'iodure double de mercure et de potassium, l'acide phosphomolybdique. On doit opérer avec précaution et suivre sous le microscope l'action du réactif. Le précipité qui se produit avec l'iodure de potassium iodé et l'iodure double de mercure et de potassium se présente sous forme de gouttelettes qui se redissolvent dans le réactif au bout d'un certain temps. Lorsque le réactif pénètre dans les cellules contenant des alcaloïdes, les premières portions tuent le protoplasme : immédiatement la plus grande partie du principe actif diffuse au dehors, et l'on n'obtient généralement, à l'intérieur de la cellule, qu'un trouble plus ou moins manifeste.

L'acide phosphomolybdique donne de bons résultats, et si l'on veut rendre plus visible le très fin précipité obtenu par ce réactif, on ajoute un peu d'iodure de potassium iodé. L'iode s'unit au précipité produit par l'acide phosphomolybdique, qui devient brun. Il faut avoir soin de faire des essais comparatifs avec des coupes traitées par l'alcool tartrique.

Dans un travail publié en 1878, M. Moynier de Villepoix (¹) décrit avec quelques détails la structure du fruit du *Conium maculatum*. Il distingue, de dedans en dehors, d'abord l'albumen, puis deux zones de cellules caractéristiques limitant extérieurement cet albumen, et enfin le péricarpe proprement dit, composé de divers éléments.

Les deux zones de cellules qui entourent l'albumen nous intéressent particulièrement. Elles sont colorées en brun. L'assise la plus interne est formée de cellules tabulaires à parois minces, tandis que l'assise externe se compose de grandes cellules très caractéristiques et spéciales que l'on appelle les « cellules cubiques de la Ciguë ». Ces cellules cubiques ont été désignées comme contenant de la coniine, et l'auteur a pu le vérifier microchimiquement au moyen du chlorure d'or et du nitrate d'argent. Au bout d'un certain temps, il a obtenu une réduction intense de ces deux réactifs dans les cellules cubiques. Il ajoute ensuite : « Il demeure donc parfaitement avéré pour nous que le plus grand emmagasinement de coniine a lieu dans les cellules cubiques, mais nous sommes loin de penser qu'il ne puisse s'en trouver dans les autres parties du fruit ».

L'examen microchimique du fruit de Ciguë permet de constater en effet une forte accumulation d'alcaloïde dans l'assise des cellules cubiques. Les réactions obtenues sont extrêmement intenses. L'assise sous-jacente à cellules tabulaires renferme également de la coniine.

L'albumen ainsi que l'embryon peuvent être considérés comme privés d'alcaloïde. L'embryon n'en renferme jamais. Toutefois on obtient fréquemment dans les cellules les plus périphériques de l'albumen, mais pas dans toutes, des réactions nettes par les

---

(¹) Moynier de Villepoix, *Recherches sur les canaux sécréteurs du fruit des Ombellifères.* (Ann. sc. nat. Botanique, 6ᵉ sér., t. V, pp. 352-353.)

réactifs. Cet alcaloïde provient par diffusion des cellules cubiques, car les semences très fraîches ne présentent pas, ou très peu, ces réactions dans les cellules périphériques de l'albumen.

Le péricarpe renferme également de l'alcaloïde et la proportion sera variable suivant l'état de maturité du fruit au moment de sa récolte. Les réactions sont surtout caractéristiques au voisinage des faisceaux et dans les cellules épidermiques.

En résumé, l'alcaloïde chez la Ciguë existe en grande quantité dans les cellules entourant l'albumen, et en plus petite quantité dans le péricarpe.

Il y a une distinction à faire entre l'alcaloïde du péricarpe et celui des cellules cubiques. Ce dernier est l'alcaloïde de la graine proprement dite, déchet de l'activité des cellules de l'ovule, résultant de sa croissance, et s'accumulant, comme chez l'*Atropa*, vers la périphérie, sans être utilisé ou détruit. Dans le péricarpe, au contraire, l'alcaloïde présente la même localisation que dans la plante verte, et son évolution est la même. Il disparaît à la mort des cellules, sans que sa disparition semble présenter une utilité immédiate pour la plante.

J'ai signalé antérieurement (1) que dans la capsule de Pavot l'alcaloïde disparaît en grande partie à la maturité, et qu'il n'y a pas lieu de faire intervenir cette disparition des alcaloïdes pour expliquer l'augmentation des substances protéiques dans les graines.

Le même fait se présente chez le *Conium*. Les cellules du péricarpe, en dépérissant, détruisent leurs alcaloïdes, et ceci nous explique pourquoi les fruits verts, non mûrs, sont beaucoup plus actifs que les fruits desséchés et mûrs (2). Il n'y a pas lieu de voir dans cette diminution de l'alcaloïde à la maturité, une utilisation du principe actif pour la formation des albuminoïdes de la graine.

---

(1) G. CLAUTRIAU, *L'azote dans les capsules de Pavot.* (BULL. DE LA SOC. BELGE DE MICROSC., t. XVIII.)

(2) A. JORISSEN, *Les phénomènes chimiques de la germination.* (MÉM. COUR. DE L'ACAD. ROY. DE BELGIQUE, t. XXXVIII, p. 66.)

Aconitum Napellus. — Delphinium Staphisagria.

Dans les graines de ces deux Renonculacées, la localisation du principe actif se fait uniquement dans l'albumen, mais d'une façon différente. Tandis que l'alcaloïde dans la semence de Staphisaigre se trouve uniformément répandu dans toutes les cellules de l'albumen, il montre, dans la graine d'Aconit, une tendance très marquée à s'accumuler vers la périphérie. Non pas, cependant, que les cellules centrales en soient dépourvues, mais les réactions qu'elles donnent sont bien moins intenses que celles obtenues dans les cellules périphériques. Parfois même, chez l'Aconit, les cellules en contact avec le tégument sont fortement comprimées, et leurs parois appliquées les unes contre les autres semblent, par leur réunion, constituer une membrane unique, épaisse, entourant l'albumen, et qui donne d'intenses réactions d'alcaloïde. Celui-ci, toutefois, ne se trouve pas dans la membrane; il est emprisonné entre les parois des cellules aplaties.

Pour localiser l'alcaloïde dans les cellules de l'albumen, le meilleur réactif est l'iodure de potassium iodé, en opérant comparativement avec des coupes traitées par l'alcool tartrique. Les différences de teintes sont très nettes et ne laissent aucun doute sur la présence de l'alcaloïde. A cause du contenu très abondant et très granuleux de ces cellules, riches en albuminoïdes, il n'est guère possible de distinguer le précipité d'alcaloïde du précipité produit par les matières protéiques, lorsque tous deux existent à la fois dans la même cellule.

Dans ce cas, il est préférable d'employer l'iodure de potassium iodé après addition de carbonate d'ammonium. La réaction est beaucoup plus nette et plus caractéristique, car, en présence de l'alcali, ni les substances albuminoïdes ni les peptones ne sont précipitées par le réactif iodé; elles se colorent en jaune, tandis que l'alcaloïde continue à se précipiter en brun foncé.

L'iodure double de mercure et de potassium ainsi que l'acide phosphomolybdique peuvent être également employés; mais comme les précipités qu'ils forment sont peu colorés, et comme ils agissent aussi sur les matières protéiques, ils peuvent, s'il y a peu d'alcaloïde, donner des résultats incertains.

Ainsi qu'il a été dit plus haut, l'albumen très développé est le siège du principe actif qui, chez l'Aconit, tend à s'accumuler vers la périphérie.

Ni le tégument de ces deux graines, ni l'embryon très petit, entouré par les cellules de l'albumen, n'ont fourni de caractère net de la présence d'un alcaloïde.

Strychnos Nux vomica.

Différents auteurs (1) se sont occupés de la localisation des alcaloïdes dans la noix vomique. Otto Lindt les localise dans la membrane. Rosoll, au contraire, obtient les réactions dans les cellules de l'albumen.

Plus récemment, Gerock et Skippari (2) ont repris cette étude, et le résultat de leurs recherches confirme les conclusions de Rosoll. Je n'ai pu trouver le travail détaillé de ces auteurs. Ils ont employé comme réactif l'iodure double de mercure et de potassium, dans lequel ils faisaient macérer les coupes. Après lavage, le précipité était mis en évidence au moyen de l'hydrogène sulfuré. Ce procédé n'est pas très rigoureux. J'ignore si les auteurs se sont servis d'autres réactifs, et s'ils ont déterminé la localisation dans les différentes parties de la graine.

Toutes les cellules de l'albumen du *Strychnos* contiennent de l'alcaloïde, et il ne m'a pas été possible, sur les matériaux assez vieux que j'avais à ma disposition, de constater un emmagasine-

---

( ) Voir à ce sujet Errera, Maistriau et Clautriau, *Premières recherches sur la localisation et la signification des alcaloïdes dans les plantes*, p. 25. (Journ. de méd. de Bruxelles, 1887, et Ann. de la Soc. belge de microsc., t. XII, Mémoires.)

(2) Gerock et Skippari, *Ueber den Sitz der Alkaloïde in Strychnossamen.* (Archiv der Pharmacie. Refer. in Berichte der Deutsch. Chem. Gesellsch., Berlin, 1893, p. 248.)

ment plus ou moins considérable dans les diverses parties de cet albumen.

Comme l'a signalé Rosoll, les alcaloïdes existent bien dans le contenu cellulaire. Pour les déceler, le mieux est d'employer l'iodure de potassium iodé et le même réactif en présence de carbonate d'ammonium, en n'omettant pas l'emploi de l'alcool tartrique comme moyen de contrôle. On peut ensuite distinguer l'un de l'autre les alcaloïdes strychnine et brucine au moyen des réactifs spéciaux. Les teintes obtenues sont généralement peu intenses, à cause surtout du fort gonflement des membranes, mais elles permettent d'affirmer la présence simultanée des deux principes azotés.

Outre l'albumen, l'embryon, qui est assez volumineux et fait saillie au dehors, renferme également des alcaloïdes dans toutes ses cellules, toutefois en proportion un peu moindre que dans les cellules de l'albumen.

Les poils caractéristiques en forme de cornue qui recouvrent la noix vomique d'un épais duvet, ne contiennent pas d'alcaloïde.

Lupinus albus.

L'examen microchimique de la graine de Lupin blanc a donné peu de résultats. Par suite de sa richesse en matériaux azotés divers, les résultats obtenus avec les réactifs généraux des alcaloïdes sont peu caractéristiques. Il semble y avoir de l'alcaloïde surtout dans les cotylédons, très volumineux. La plumule en renfermerait également. Quant au tégument, il en est dépourvu.

II

La théorie la plus probable au sujet de la signification des alcaloïdes dans les plantes, est certainement celle qui les considère comme des *déchets* (¹), provenant de la destruction des matières albuminoïdes ; déchets que la plante a pu utiliser ensuite, par sélection, pour se protéger contre certains ennemis. On a souvent objecté à cette théorie la présence de grandes quantités d'alcaloïde dans les graines. Partant de l'idée que tout ce qui se trouve dans la semence doit servir au développement de l'embryon, on s'est refusé à ne voir que des déchets dans les alcaloïdes. D'autant plus que certaines expériences de germination semblaient être favorables à la théorie adverse, qui envisage les principes actifs comme des produits transitoires, servant à la formation des matières albuminoïdes et constituant, lorsqu'ils s'accumulent, de véritables matériaux de réserve. Jorissen (²) admet l'utilisation des alcaloïdes dans la germination. E. Heckel (³), dans une note très sommaire publiée en 1891, conclut dans le même sens. Ses expériences ont porté sur le *Sterculia acuminata*, le *Strychnos Nux vomica*, le *Physostigma venenosum* et le *Datura Stramonium*, et il a constaté que les graines de ces plantes ont perdu la plus grande partie de leur principe au cours de la germination. L'auteur en déduit immédiatement que ce qui a disparu a été transformé en substances plus assimilables, et cela sous l'influence de l'embryon : car, dit-il,

---

(¹) Sachs, *Vorlesungen über Pflanzenphysiologie*, 1882, p. 396.

Errera, Maistriau et Clautriau, *Premières recherches sur la localisation et la signification des alcaloïdes dans les plantes*, 1887, p. 27.

(²) A. Jorissen, *Les phénomènes chimiques de la germination*. (Mém. cour. de l'Acad. roy. de Belgique, t. XXXVIII, p. 73.)

(³) E. Heckel, *Sur l'utilisation et les transformations de quelques alcaloïdes dans la graine pendant la germination*. (Comptes rendus de l'Acad. des sciences, Paris, janvier 1891.)

privées au préalable de leur germe, les mêmes graines enfouies dans la terre humide conservent longtemps les alcaloïdes sans transformation.

Malheureusement, Heckel ne donne aucun détail sur ses expériences, et je ne pense pas qu'il ait publié ultérieurement un travail plus complet sur cette question.

Des plantes qu'il a examinées, je n'avais à ma disposition que le *Datura Stramonium*, chez lequel précisément il admet une utilisation complète de l'alcaloïde comme aliment.

Si l'on considère la localisation du principe actif dans la semence de Stramoine, que nous avons décrite dans la première partie de ce travail, il est difficile d'admettre à priori la théorie d'Heckel. Pourquoi, en effet, si l'alcaloïde est une réserve nutritive, ne disparaît-il pas de l'assise nourricière, alors que celle-ci, au cours du développement de la graine, se vide de l'amidon et des substances albuminoïdes qu'elle contenait? La graine ne l'utilise pas pendant sa formation : le ferait-elle lors de sa germination ?

La solution directe de cette question n'est guère possible expérimentalement, car le fait de la disparition de l'alcaloïde n'est pas suffisant pour affirmer qu'il a servi d'aliment. Tout ce qui disparaît d'une cellule végétale n'a pas été nécessairement utilisé par elle. La cellule végétale ne pourrait-elle pas modifier ou détruire la molécule alcaloïdique, comme sait le faire la cellule animale ? Et au lieu d'utilisation, ne peut-on, avec autant de raison, parler de destruction ?

Mais, auparavant, il est préférable de s'assurer si l'alcaloïde de la graine est nécessaire au développement normal de l'embryon et de la plantule. Cette expérience est réalisable, et elle montre que la germination se fait tout aussi bien après l'enlèvement des alcaloïdes. Il est très aisé de priver la semence de Stramoine de tout son principe actif. Pour cela, il suffit d'enlever le tégument, opération qui ne demande qu'un peu de patience. Comme la couche à alcaloïde adhère à celui-ci, elle s'enlève en même temps, pour la plus grande partie. Ce qui reste accolé à l'albumen est facilement débarrassé de tout principe actif par quelques lavages à l'eau distillée.

On pèle donc un certain nombre de semences de *Datura Stramonium*, et on les traite par de l'eau distillée jusqu'à ce que celle-ci ne donne plus aucun trouble par les réactifs des alcaloïdes. Les graines sont alors complètement privées de principe actif : je m'en suis assuré à deux reprises, en broyant chaque fois une cinquantaine de ces graines pelées et lavées, et les épuisant plusieurs fois par de l'alcool absolu acidulé. L'alcool a été évaporé au bain-marie, le résidu repris par l'eau, et cette solution aqueuse filtrée a été réduite à un petit volume et essayée par l'iodure de potassium iodé et l'iodure double de mercure et de potassium. Il ne s'est produit aucun précipité, tandis qu'une seule graine non pelée donne déjà un précipité abondant par le même traitement.

Ces graines privées d'alcaloïde, mises en terre humide ou sur une étamine en atmosphère saturée de vapeur d'eau, germent rapidement, plus rapidement que les graines non pelées, et donnent des plantules qui ne diffèrent en rien des plantules normales de *Datura*.

On peut également faire la même expérience avec le *Conium maculatum*. Elle est toutefois un peu moins probante, car il n'est pas possible d'enlever complètement l'alcaloïde. Les semences de Ciguë sont placées dans l'eau un certain temps, jusqu'à ce que l'enveloppe du fruit soit suffisamment imbibée. Elle se détache alors facilement. Avec l'ongle, on gratte ensuite soigneusement toute la surface de la graine, de façon à enlever les couches périphériques à alcaloïde, et on la soumet à un lavage répété à l'eau distillée. On parvient à obtenir ainsi des graines qui ne renferment plus que la très petite quantité de coniine qui se trouve dans les cellules de l'albumen.

Un essai chimique d'un certain nombre de ces graines m'a permis de constater qu'il ne restait qu'une très faible quantité d'alcaloïde.

La germination de ces semences s'est produite normalement, et comme chez la Stramoine, elles ont donné naissance à de jeunes plantes identiques à celles provenant de graines intactes.

L'examen microchimique de ces plantules, issues de graines *pelées* de Stramoine et de Ciguë, permet de déceler la présence d'une grande quantité d'alcaloïde, principalement au point végétatif (¹). L'iodure de potassium iodé, l'iodure double de mercure et de potassium, l'acide phosphomolybdique produisent un abondant précipité au point végétatif. Après traitement par l'alcool tartrique, le précipité ne se forme plus. On constate également un peu d'alcaloïde autour du faisceau central de la jeune racine. Microchimiquement, ces plantules ne diffèrent pas des plantules normales.

Il résulte de ces expériences que *l'alcaloïde n'est pas nécessaire à la germination*, et que, de plus, fait important, il y a production, pendant celle-ci, d'une certaine quantité de principe actif. Dans le développement de l'embryon comme dans celui de l'ovule, une activité protoplasmique considérable se manifeste; dans les deux cas, une grande quantité de matières protéiques est *métabolisée,* et il en résulte une production et une accumulation d'alcaloïde (²), que l'on ne peut considérer que comme un déchet.

Cette production d'alcaloïde au cours de la germination n'est pas uniquement propre à la Stramoine ou à la Ciguë On peut également la constater chez des plantes dont la graine est dépourvue de principe actif. Chez le Tabac, par exemple, la nicotine apparaît pendant la germination, et des plantules dont les cotylédons sont à peine étalés, donnent une réaction nette d'alcaloïde au point végétatif. Chez le Pavot (³), la morphine n'apparaît pas au début du développement de la plante. Elle semble être précédée d'un autre alcaloïde, à réactions peu nettes, que je n'ai pu jusqu'à présent identifier, au microscope, avec aucun des principes azotés extraits de l'opium.

Le principe actif des graines d'Aconit, de Staphisaigre, de noix vomique, etc., est-il également inutile à la germination? On ne peut donner une réponse certaine à cette question. Il n'y a pas

---

(¹) Errera, *op. cit.*

(²) Puisque la graine, dès qu'elle germe, produit de l'alcaloïde, il est permis de douter de l'exactitude du résultat obtenu par Heckel en ce qui concerne le *Datura Stramonium.* Il n'a plus trouvé d'alcaloïde dans les semences en germination, et cependant il devait y en avoir.

(³) Clautriau, *Recherches microchimiques sur la localisation des alcaloïdes dans le* Papaver somniferum. (Mém. de la Soc. belge de microsc., t. XII.)

moyen, en effet, de répéter avec ces semences les expériences faites avec celles de *Datura* et de *Conium*.

Toutefois, durant le développement de l'ovule, la signification de l'alcaloïde paraît être la même que chez la Stramoine. Il semble également être le résultat de l'activité protoplasmique, sans utilité directe pour la graine en voie de formation. Il est probable que cette analogie avec le *Datura* se continue au cours de la germination, car les plantules d'Aconit et de Staphisaigre présentent au point végétatif de la racine une accumulation d'alcaloïde, et celui-ci résulte, selon toute probabilité, du métabolisme des matériaux protéiques de réserve, comme chez le Tabac.

Si telle n'était pas l'origine de l'alcaloïde de ces plantules, il faudrait admettre que le principe actif a émigré de la graine vers le point végétatif où il s'accumule, et d'où il ne disparaît plus, ce qui tendrait à prouver également qu'il ne représente dans la graine ni une réserve ni une substance alimentaire. Il est possible, effectivement, qu'une partie des alcaloïdes de la graine en germination passe sans modification dans la plantule et augmente sa richesse en principe actif, lui procurant de ce fait une protection plus efficace. Mais il reste établi, par les expériences citées plus haut sur le *Datura*, le *Conium*, le *Nicotiana* et le *Papaver*, que la graine qui germe produit des alcaloïdes.

Par suite de ce qui précède, la fonction essentielle que remplissent les alcaloïdes dans les graines comme dans les plantes doit être une fonction de protection. La localisation, si variable ici, s'interprète de la façon la plus naturelle en partant de ce rôle.

Les graines très petites sont privées d'alcaloïdes (Tabac, Pavot). Elles sont généralement produites en quantité considérable, et ce grand nombre assure d'une manière efficace la continuation de l'espèce. L'avantage d'une protection par une quantité d'alcaloïdes forcément très minime, n'est guère manifeste.

Lorsque les graines acquièrent un certain volume, la plante en produit un nombre plus restreint, et l'utilité des alcaloïdes comme moyen de protection devient évidente. Dans chacune s'accumule une certaine quantité de principe actif. Cette accumulation, ainsi que nous l'avons vu dans la première partie de ce travail, est très variable. Elle se fait sous le tégument, dans les graines relativement petites des Solanées à atropine et de la Ciguë. Quand l'albumen est mieux développé, c'est dans ses cellules que l'on retrouvera le principe actif, comme cela se voit chez l'Aconit ou la Staphisaigre. L'embryon, s'il est petit, enfoui dans l'albumen, pourra n'en pas contenir ou n'en renfermer que très peu ; tandis qu'un embryon bien développé et surtout faisant saillie au dehors, comme celui du *Strychnos*, sera riche en alcaloïde.

Lorsque, comme chez le Lupin, les cotylédons prennent un développement considérable, ce sont eux qui emmagasinent l'alcaloïde en même temps que les matériaux nutritifs. Nous voyons donc que les alcaloïdes se localisent toujours de façon à assurer une protection efficace.

CONCLUSIONS

1° La localisation des alcaloïdes dans les graines varie considérablement suivant les espèces.

2° Dès que l'ovule se développe, l'alcaloïde apparaît comme résultat de l'activité protoplasmique.

3° L'alcaloïde ne sert pas à l'élaboration des matières protéiques de réserve de la graine. Il s'accumule dans celle-ci sans se modifier au cours de la maturation.

4° L'alcaloïde de la graine n'est pas nécessaire à la germination.

5° Lorsque la graine germe, il y a une formation abondante d'alcaloïde résultant de la transformation et de l'utilisation, par la cellule vivante, des matières protéiques de réserve. Il s'accumule principalement au point végétatif de la racine.

6° Le rôle essentiel des alcaloïdes dans les graines est un rôle de protection.

Institut botanique, Université de Bruxelles, février 1894.

RECHERCHES DE MICROCHIMIE COMPARÉE

SUR LA

LOCALISATION DES ALCALOÏDES

DANS LES SOLANACÉES

PAR

Ph. MOLLE (¹)

Docteur en sciences naturelles, à Jodoigne

LES ALCALOÏDES DES SOLANACÉES.

Après que Posselt et Reimann (²) eurent extrait la nicotine du Tabac, de nombreux chimistes, qu'un premier succès avait stimulés, s'efforcèrent de retirer de diverses plantes vénéneuses les principes nocifs qui leur avaient acquis depuis longtemps une triste célébrité. Dans la famille des Solanacées, la plupart de nos espèces indigènes soumises à ces investigations fournirent des corps toxiques qui parurent différer notablement les uns des autres, et la liste des bases retirées de ces végétaux ne tarda pas à s'enrichir encore d'alcaloïdes fournis par des espèces exotiques. Cependant, des recherches ultérieures, conduites d'après des méthodes, qui allèrent bientôt se perfectionnant, firent naître peu à peu des

---

(¹) Ce travail a paru dans les *Mémoires couronnés et autres mémoires* publiés par l'Académie royale de Belgique, t. LIII, 1895.

(²) POSSELT et REIMANN, *Magaz. f. Pharm.*, XXIV, p. 138.

doutes sur la valeur définitive de ces prétendus alcaloïdes, et l'étude attentive de leurs composés a établi, en effet, que plusieurs d'entre eux n'étaient que des mélanges.

Ladenburg et ses collaborateurs ont surtout contribué à ce travail d'épuration du vocabulaire toxicologique. Reprenant l'étude des principes de la Jusquiame (1), de la Stramoine (2) et de *Duboisia myoporoides* (3), ils découvrirent que l'hyoscyamine du commerce est un mélange de deux bases isomères de l'atropine : l'une solide, à laquelle ils conservèrent le nom d'*hyoscyamine*, bien qu'elle ne soit pas prédominante dans les tissus d'*Hyoscyamus niger*, et l'autre liquide, qu'ils appelèrent *hyoscine;* la daturine fut reconnue être un mélange d'atropine et d'hyoscyamine; enfin, dans les diverses expériences auxquelles ils la soumirent, la duboisine (4) s'étant comportée identiquement comme l'hyoscyamine, ils proposèrent d'en faire disparaître le nom de la nomenclature des alcaloïdes.

D'un autre côté, Henschke (5) a établi que la scopoloïne et la rotoïne, signalées par Langgaard dans *Scopolia japonica,* sont une association d'atropine, d'hyoscyamine et d'hyoscine.

Petit (6) tient pour identique à la nicotine la piturine que Gerrard a extraite de *Duboisia Hopwoodii*, une Solanacée originaire de l'Australie méridionale où les indigènes en usent comme de tabac. Les réactions de la piturine indiquées par Liversidge (7) ne confirment pas complètement l'opinion de Petit, de sorte qu'il faut considérer le corps en question comme une espèce chimique incertaine, dont l'étude approfondie est encore à faire.

---

(1) Ladenburg, *Ueber das Hyoscyamin.* (Berichte der Deutsch. Chem. Gesellsch., 1881, S. 254.)

(2) Ladenburg und Meyer, *Ueber das Hyoscin.* (Berichte der Deutsch. Chem. Gesellsch., 1880, S. 1549.)

(3) Id., *Ueber das Daturin.* (Berichte der Deutsch. Chem. Gesellsch., 1880, S. 380.)

(4) Id., *Ueber das Duboisin.* (Berichte der Deutsch. Chem. Gesellsch., 1880, S. 257.)

(5) Henschke, *Untersuch. über die Bestandtheilen der Jap. Bellad.* (Zeitschr. f. Naturw., Bd XL, 1887, S. 103-143.)

(6) Petit, *Sur l'alcaloïde du Pituri.* (Journ. de pharm. et de chim., 4e sér., t. XXIX, p. 338.)

(7) Liversidge, *The Alkaloid from Pituric.* (The chem. News, vol. XLIII, pp. 124 et 138.)

Chastaing, qui a résumé dans l'*Encyclopédie de Frémy* les principaux travaux relatifs aux bases végétales, ne l'admet pas au nombre de ces dernières, et il limite à cinq les alcaloïdes bien définis que l'on a retirés des Solanacées en quantité notable : l'atropine, l'hyoscyamine (atropine β, atropidine), l'hyoscine, la nicotine et la solanine.

Éminemment toxique et douée de fonctions alcaloïdiques bien caractérisées, la solanine s'écarte cependant des bases végétales par plusieurs réactions, et il est préférable de la rapporter aux glycosides en raison de la propriété qu'elle possède de se scinder à chaud en glycose et solanidine sous l'influence des acides minéraux dilués et même de l'acide oxalique.

D'autres alcaloïdes, notamment la choline ou bilineurine (¹) et la bétaïne (²), ont été signalés dans les tissus des Solanacées, mais le plus souvent en quantité si minime qu'ils ne peuvent y avoir qu'une importance restreinte et qu'il ne sera pas facile d'ailleurs de les déceler directement dans le suc cellulaire.

Mais le groupe des Solanacées compte plus de 1,250 espèces, et les neuf dixièmes au moins restent à étudier relativement à la nature des principes qu'elles élaborent. Il ne manque pas de plantes vénéneuses parmi ces végétaux dont le plus grand nombre appartiennent à la flore tropicale, et il serait intéressant d'en extraire les principes toxiques pour les identifier avec ceux que nous possédons déjà, ou en accroître le nombre, et pour établir ensuite les liens de parenté qui rattachent les unes aux autres les molécules de ces corps appelés, semble-t-il, par l'évolution à jouer

---

(¹) H. Kunz, *Ueber den Alkaloidgehalt des Extractums Belladonae Pharm. Germ. II.* (Arch. der Pharm., 1885, Bd CCXXIII, pp. 701, 709.)

(²) Husemann und Marme, *Just's botan. Jahresbericht,* 1875, nº 844. — W. Schütte, *Solanaceen Alkaloide.* (Arch. der Pharm., 1891, Bd CCXXIX, Heft 7, p. 492.)

chez diverses espèces d'une même famille des rôles correspondants. Il est regrettable que les investigations chimiques aient subi un temps d'arrêt dans cette voie sans doute féconde en découvertes, mais il faut bien reconnaître qu'elles manquaient un peu de base, car toutes les Solanacées n'ont pu acquérir, comme la Belladone et la Jusquiame, une notoriété qui les eût imposées à l'attention des savants; c'est inaperçues, parfois au milieu des solitudes, que nombre d'entre elles ont dû exercer sur leurs agresseurs une vengeance posthume.

Actuellement, c'est à la microchimie (¹) qu'il appartient d'indiquer les végétaux alcaloïdifères et de pousser en quelque sorte une première reconnaissance dans ces régions inexplorées de la chimie : il ne manquera sans doute pas ensuite de chimistes désireux de combler une lacune redoutable au point de vue criminel, et embarrassante au point de vue des progrès de la physiologie végétale.

Parmi ces Solanacées qui n'ont pas été soumises à l'analyse élémentaire, toutes celles que nous avons étudiées renferment des alcaloïdes, mais nous n'avons pu en examiner encore qu'un nombre fort restreint.

Dans le présent travail, nous nous sommes borné à rechercher comment les alcaloïdes se répartissent entre les éléments histologiques d'individus assez peu nombreux, mais appartenant aux genres les plus variés, et comment ils se comportent tandis que la plante évolue de l'état embryonnaire à l'état adulte.

Il s'en faut que le sujet soit absolument neuf.

Maistriau (²) a localisé la nicotine dans *Nicotiana macrophylla;* De Wèvre (³), l'atropine dans *Atropa Belladona;* Schaarschmidt (⁴),

---

(¹) L. ERRERA, MAISTRIAU et CLAUTRIAU, *Premières recherches sur la localisation et la signification des alcaloïdes*, 1887, p. 19.

(²) IDEM, *ibid.*, pp. 12 et 14.

(³) DE WÈVRE, *Localisation de l'atropine.* (BULL. DES SÉANCES DE LA SOC. BELGE DE MICROSC., octobre 1887.)

(⁴) SCHAARSCHMIDT, *Ueber d. mikrochem. Reaction des Solanins.* (ZEITSCHR. F. WISS. MIKROSK., I, 1884, pp. 61 et 62.)

et après lui Theorin (¹) et Wothschall (²), ont fourni des indications assez détaillées sur la répartition de la solanine dans *Solanum tuberosum;* et ce dernier a étudié en outre le produit connu en pharmacie sous le nom de *Stipites Dulcamarae;* mais ce sont là des travaux visant des végétaux isolés, tandis que nous avons en vue la microchimie comparée de la famille.

Pour exposer clairement le résultat de telles recherches, il nous faudra les mettre en rapport avec l'anatomie comparée du groupe; c'est pourquoi nous ferons d'abord connaître la structure des organes d'un type : il sera facile d'y rattacher les autres, car, au point de vue anatomique comme au point de vue morphologique, la plupart des espèces de cette famille ont entre elles de profondes affinités; à mesure que l'occasion s'en présentera, nous indiquerons les particularités histologiques qui intéressent notre sujet.

ANATOMIE DE SOLANUM TUBEROSUM.

Tige. — Le *Solanum tuberosum* présente, comme on sait, des tiges typiques aériennes et des tiges souterraines le plus souvent renflées et à feuilles réduites (tubercules).

Une coupe transversale de la tige aérienne pratiquée au bas d'un entre-nœud (fig. 1) a la forme d'un triangle curviligne dont deux côtés sont convexes et le troisième concave, celui-ci correspondant à la feuille qui vient de quitter la tige ; les trois côtés sont convexes vers le sommet de l'entre-nœud.

Les cellules épidermiques (*ep*) ont des parois externes épaissies et fortement chagrinées. Elles supportent des poils de deux sortes : les uns (*pa*) articulés, pointus, à membranes externes épaissies, cutinisées et chagrinées, chevauchant parfois sur deux cellules ; les

---

(¹) Theorin, P. G. E., *Några växtmikrokemiska Anteckningar.* (Oefv. Vet. Akad., Stockholm, 1885, p. 20.)

(²) Wothschall, *Ueber d. mikrochem. Reaction des Solanins.* (Zeitschr. f. wiss. Mikrosk., 1889, pp. 19-38, 182-195.)

autres (*pg*) terminés par une tête ellipsoïdale et dont les parois externes ne se cutinisent pas.

Sous l'épiderme, on trouve le long des côtés du triangle une seule rangée de cellules parenchymateuses à parois minces, et aux sommets, de petits massifs de même nature formant des proéminences qui ne sont autres que les décurrences sur la tige de limbes foliaires.

Sous ces éléments souvent remplis d'un suc cellulaire bleu, on rencontre une couche de collenchyme (*col*) dont l'épaisseur atteint de deux à cinq rangées de cellules, puis des éléments arrondis à grand lumen (*pc*), que des granules d'oxalate de calcium obstruent çà et là (*co*) complètement; enfin un endoderme à parois radiales plissées et souvent riche en amidon (*end*).

L'assise périphérique du corps ligneux ou péricycle se compose de deux sortes d'éléments : les uns (*p*) à membranes minces, fréquemment rhizogènes; les autres (*s*) arrondis, à lumen plus étroit, à parois stratifiées et très peu ou point lignifiées, isolés ou le plus souvent par groupes de deux à quatre.

Contre cette assise et généralement en face des éléments à parois épaissies, on rencontre des îlots libériens (*le*), formés de quelques tubes criblés avec cellules annexes. Il s'en trouve entre les faisceaux ligneux; mais habituellement, ils sont plus puissants et plus nombreux en face de ces derniers.

Les faisceaux ligneux, assez peu distincts, sont au nombre de cinq, dont trois plus gros vers les sommets du triangle et deux plus petits sur ses côtés convexes. Des coupes pratiquées dans une région où commence à se manifester un développement secondaire, font voir que l'anneau cambial est formé dans les faisceaux par des éléments parenchymateux compris entre le bois et les îlots libériens et, dans les régions extrafasciculaires, par les cellules de la moelle situées immédiatement sous le liber ou sous les éléments péricycliques.

Au sein de la moelle, à deux ou trois épaisseurs de cellule du protoxylème ou du cambium extrafasciculaire, on rencontre de nouveau des îlots libériens (*li*), le plus souvent accompagnés vers l'intérieur d'élements à parois épaisses (*s*), identiques à ceux que nous avons signalés dans l'assise péricyclique.

Au centre même de la tige, les cellules médullaires sont le plus souvent détruites et l'espace lysigène ainsi formé peut s'étendre jusqu'au liber médullaire.

L'étude d'une coupe tangentielle de la tige permet de constater que les cellules à oxalate de calcium de la moelle et du parenchyme cortical sont habituellement superposées en longues files interrompues çà et là par des cellules dépourvues de cristaux.

Les éléments à parois épaisses qui accompagnent les libers sont très longs et terminés en pointes obtuses (fig. 3, *s*). L'observation en est très facile sur des coupes tangentielles pratiquées sur les confins du corps ligneux. Ils constituent de petits faisceaux courant parallèlement sous l'endoderme, le long desquels grimpent quelques tubes criblés avec leurs cellules annexes : ce sont des stéréides (¹), que Lecomte (²) a désignées sous le nom de fibres extralibériennes, sans vouloir rien décider relativement à leur origine, péricyclique pour les uns et libérienne pour les autres.

Les cordons libériens (fig. 3) ont une course assez capricieuse, quittant parfois leur support pour se diriger vers un autre ou se divisant pour envoyer à droite et à gauche des rameaux sinueux, obliques ou horizontaux (*al*), qui vont s'anastomoser avec les voisins.

Le liber médullaire se conduit absolument de même, et il paraît n'être associé que très faiblement avec les faisceaux ligneux. Cette disposition libérienne explique comment, dans une série de coupes transversales, on voit varier sensiblement la position relative ainsi que le nombre des îlots libériens.

Lamounette (³) a constaté dans *Solanum nigrum*, où le liber se comporte comme nous venons de l'exposer, que le nombre des groupes libériens de la moelle varie d'un point à l'autre, et il l'explique par le recloisonnement ultérieur de cellules médullaires

---

(¹) SCHWENDENER, *Das mechan. Princip im anat. Bau der Monocotylen.* Leipzig, 1874.

(²) LECOMTE, *Liber des Angiospermes.* (ANN. SC. NAT., 7ᵉ sér., t. X.)

(³) LAMOUNETTE, *Recherches sur l'origine du liber interne.* (ANN. SC. NAT., 7ᵉ sér., t. XI, p. 214.)

séparant deux groupes libériens et ayant pour effet de réunir ces groupes en un seul. Les tubes criblés et leurs cellules annexes qui constituent les anastomoses proviennent, en effet, comme l'indique la figure 3, de la division de cellules parenchymateuses intermédiaires entre les cordons libériens, mais le recloisonnement qui leur donne naissance n'affecte qu'un petit nombre de cellules situées sur une ligne allant d'un cordon à l'autre, de sorte que ceux-ci sont mis en communication, mais ne sont pas réunis.

Wilhelm a signalé aussi des anastomoses libériennes à travers les rayons médullaires de la Vigne; Russow en a observé chez *Quercus pedunculata* et Lecomte chez les *Rubus*.

J.-B. de Toni (¹), qui a fait l'anatomie de *Nicotiana Tabacum*, n'en fait pas mention chez cette plante; cependant nous en avons observé dans d'autres Solanacées, telles que *Atropa Belladona*, *Datura Stramonium* (fig. 4), *Petunia violacea*, etc.

Entre les deux libers, la course des faisceaux ligneux peut être représentée par la figure schématique 2. Une feuille F_3 naît sur l'une des faces de la tige et son faisceau se réunit aux deux faisceaux voisins, à la hauteur de l'insertion du pétiole par des rameaux obliques, tandis qu'un troisième rameau médian parcourt la tige sur un espace de deux entre-nœuds pour venir se rattacher au faisceau de gauche à la hauteur de la feuille F_1.

Sur des coupes tangentielles faites dans le bois secondaire, on observe des rayons médullaires d'une seule couche de cellules et celles-ci forment de longues séries à éléments extrêmes terminés en pointe. Chez d'autres Solanacées, les rayons médullaires peuvent présenter une épaisseur plus considérable; cette épaisseur ne dépasse cependant pas quatre couches de cellules.

Tant que les rameaux souterrains conservent un faible diamètre, leur structure n'est modifiée que par la réduction du xylème. Mais après un allongement très faible, ils se renflent le plus souvent à leur extrémité pour constituer un tubercule. Chez celui-ci, les yeux

---

(¹) J.-B. de Toni und Julius Paoletti, *Beitrag zur Kenntn. d. anat. Baues v. Nicot. Tabac.*, 1891.

sont comme des rameaux invaginés dont les feuilles axillaires, quoique des plus réduites, renseignent très bien sur la polarité de l'organe. D'autres feuilles, étagées sur les bords de l'enfoncement, atteignent une longueur maxima de 1-2 millimètres et portent à leur base des bourgeons excessivement réduits : le point végétatif terminal se trouve au fond de la cavité. A mesure que l'on se rapproche de l'extrémité antérieure du tubercule, les entre-nœuds se raccourcissent et, les yeux devenant de moins en moins profonds, le bourgeon extrême affleure à la surface.

Une coupe transversale du tubercule (fig. 5) laisse voir une organisation analogue à celle que nous venons de décrire ; seulement le parenchyme cortical et le parenchyme médullaire y sont très développés. Dans le jeune âge, on y trouve un anneau cambial complet ; plus tard, on n'observe plus de cambium qu'en face des faisceaux ligneux. La disposition de la plupart de ces derniers accuse d'ailleurs nettement leur origine secondaire, mais entre les groupes ligneux il est souvent difficile de reconstituer les séries radiales primitives du parenchyme. Les groupes du xylème sont accompagnés, du côté externe et du côté interne, de faisceaux libériens qui se prolongent en s'anastomosant dans le parenchyme cortical et jusqu'au centre de la moelle.

En coupe tangentielle, le liber apparaît comme un réseau composé de tubes criblés et de cellules annexes généralement courts, dont la plupart semblent s'être formés par recloisonnement des cellules parenchymateuses avoisinantes.

Très jeune encore, l'épiderme se recloisonne pour former du liège percé de nombreuses lenticelles.

Feuilles. — Le faisceau des pétioles foliaires est en forme de croissant et les deux libers que l'on y rencontre sont accompagnés de stéréides comme dans la tige.

Racine. — La racine présente une structure normale. Le cylindre central est à cinq pôles, et ceux-ci se trouvent situés sous le péricycle. On ne remarque pas de différenciation entre les éléments constitutifs de ce dernier, mais auprès des tubes criblés on rencontre des éléments à parois fortement épaissies qui rappellent les stéréides de la tige.

C'est le péricycle qui se transforme plus tard en phellogène, et nous avons constaté qu'il en est de même dans *Solanum nigrum* et dans *Atropa Belladona;* mais dans *Solanum Dulcamara*, il provient, comme dans *Clusia* (¹), du recloisonnement des cellules corticales de la troisième couche à partir de l'assise pilifère (fig. 14, *phg*).

Quant à l'origine des tissus, l'examen du point végétatif de l'embryon fait voir que l'assise pilifère, le périblème et le plérome y ont des initiales distinctes, tandis que la coiffe est le produit des divisions périclines du dermatogène.

Appareil reproducteur. — Le calice, la corolle et l'androcée sont actinomorphes et pentamères. Leur organisation anatomique nous a paru normale.

Le gynécée est composé de deux carpelles clos, concrescents en un ovaire à deux loges dans l'angle interne desquelles se trouvent insérés, sur un gros placenta saillant, un grand nombre d'ovules anatropes.

Par suite du développement du parenchyme des placentas, les graines finissent par être pressées contre les parois externes de l'ovaire et les loges par s'obstruer, de sorte que l'ovaire se transforme en baie.

La graine (fig. 6) renferme un albumen charnu et un embryon incolore, à cotylédons étroits, de longueurs quelque peu inégales, enroulé dans l'albumen.

Les enveloppes séminales sont au nombre de deux. L'externe est composée d'une seule couche de cellules dont les parois se sont fortement épaissies dans leur moitié inférieure, tandis que la moitié supérieure s'est gélifiée, à l'exception de filaments placés de distance en distance. Vu de face, ce tégument apparaît comme

---

(¹) Van Tieghem, *Traité de botanique*, 1re édit., 1884, p. 519.

un réseau de crêtes ondulées limitant des alvéoles assez peu profondes.

L'enveloppe interne est formée de tissus morts, à membranes brunes, subérifiées, provenant des tissus de l'ovule, écrasés par suite du développement de l'albumen et de l'embryon.

On peut facilement constater que les parois externes des cellules de l'albumen en contact avec les téguments se sont beaucoup plus épaissies que les autres et leur servent en quelque sorte d'enveloppe protectrice.

Construits tous d'après le plan général que nous venons d'exposer, les organes de la fructification des Solanacées présentent toutefois de légères variations affectant :

1° L'embryon, qui peut être à peine courbé, comme dans *Nicotiana Tabacum ;*

2° Le nombre des loges de l'ovaire, qui peut être porté de 2 à 5 par le développement de cloisons divisant les placentas;

3° Le nombre des étamines, souvent réduit à 4 par avortement dans la tribu des Salpiglossidées, comme dans la famille des Scrophularinées, vers laquelle elle sert de transition.

Ce sont ces variations qui ont servi de base à la division des Solanacées en tribus. Nous indiquons, d'après Wettstein (1), le tableau de cette répartition avec indication des espèces que nous avons étudiées, et que nous avons prises autant que possible à tous les groupes.

---

(1) Engler und Prantl, *Die natürl. Pflanzenfamilien,* t. IV, 3e part.

SOLANACÉES.

				ESPÈCES ÉTUDIÉES.
A. Embryon clairement courbé; la courbure atteint toujours plus d'un demi-cercle.	Ovaire à 3-5 loges, les parois des loges divisant les placentas en lambeaux irréguliers.	I. NICANDRÉES		*Nicandra physaloides* (L.) Gärtn.
Les cinq étamines fertiles, de même longueur ou peu différentes.	Fruit à 2 loges.	II. SOLANÉES.	*Lycinées.*	*Atropa Belladona* L.
			Hyoscyaminées.	*Scopolia japonica* Maxim. *Hyoscyamus niger* L.
			Solaninées	*Physalis Alkekengi* L. *Solanum tuberosum* L. *Solanum Dulcamara* L.
	Fruit à 4 loges, les parois de l'ovaire divisant les placentas en quatre parties égales.	III. DATURÉES.		*Datura Stram.* L.
B. Embryon droit ou faiblement courbé; la courbure n'atteint pas un demi-cercle.	5 étamines fertiles, toutes égales ou 1-3 plus courtes.	IV. CESTRÉES	*Cestrinées.* *Goetzeiniées.*	
			Nicotianées	*Nicotiana Tabacum* Don. *Petunia violacea* Lindl.
	Seulement 2-4 étam. fertiles, toujours de longueurs différentes.	V. SALPIGLOSSIDÉES		*Salpiglossis sinuata* Ruiz et Pav. *Brunfelsia americana* L.

MÉTHODE DE LOCALISATION.

Les alcaloïdes possèdent un certain nombre de réactifs communs, parmi lesquels il faut citer l'iodure de potassium iodé, l'acide phosphomolybdique, l'iodure double de potassium et de mercure, l'acide picrique, le tanin, le chlorure mercurique, le tétrachlorure de platine et le trichlorure d'or.

Dans des solutions aqueuses plus ou moins diluées de sels d'alcaloïdes, chacun de ces réactifs donne le plus souvent des précipités assez caractéristiques avec lesquels l'œil se familiarise bientôt. Si l'on effectue les réactions sur le porte-objet du microscope, on jugera de la couleur des précipités par transparence et non par réflexion, comme quand on les examine dans les tubes à essai ; on acquerra, en outre, une idée plus intime et plus nette des diverses phases du phénomène et l'on établira des points de repère auxquels on rapportera aisément les modifications provoquées par les mêmes réactifs dans le suc cellulaire.

La méthode à suivre dans la recherche microchimique des alcaloïdes a été exposée par Errera, Clautriau et Maistriau. Ils font agir sur des tranches minces de tissus vivants les réactifs que nous venons de rappeler : dès qu'ils se trouvent en contact avec le suc cellulaire, ces réactifs y décèlent la présence des bases végétales par les colorations et les précipitations auxquelles leur arrivée donne naissance. Mais pour agir sur le contenu de la vacuole, il faut d'abord qu'ils traversent le cytoplasme, et comme celui-ci, tant qu'il est vivant, résiste à leur diffusion, il faudra, comme l'a fait De Vries (¹), soumettre les préparations à une chaleur capable de tuer les cellules si les réactifs employés ne suffisent pas à déterminer la mort rapide des tonoplastes.

Lorsque les précipités formés ont, comme ceux que détermine

(¹) DE VRIES, *Plasmolytische Studien über die Wand der Vacuolen.* (JAHRB. F. WISS. BOT., XVI, 1885, p. 575.)

l'iodure de potassium iodé, une coloration qui tranche nettement sur la teinte du suc cellulaire, ils sont toujours facilement observables à l'intérieur de la cellule; mais quand il n'en est pas ainsi, l'observation microscopique peut, dans les conditions ordinaires, laisser quelque doute sur la formation de ce précipité. Klercker (¹) nous a fourni le moyen de faire disparaître toute cause d'erreur en donnant une méthode pour séparer les cellules de leur membrane cellulosique.

On plonge les coupes à examiner dans une solution suffisamment concentrée d'azotate de potassium, et quand les cellules se sont plasmolysées, on déchire les tissus au moyen d'aiguilles : les protoplastes dont l'enveloppe a été lacérée tombent dans le liquide ambiant. Dans des cellules ainsi isolées, les effets des réactifs ne sauraient plus guère paraître douteux.

Toutefois, doit-on attribuer à la présence d'alcaloïdes les précipitations observées dans certaines cellules lorsque l'on fait agir sur les tissus l'iodure de potassium iodé, l'acide phosphomolybdique, etc.?

A la vérité, aucune de ces réactions prise isolément n'appartient d'une manière exclusive aux alcaloïdes; mais en est-il encore de même de la série tout entière? En d'autres termes, les réactifs dont nous avons parlé sont-ils bien, dans leur ensemble, caractéristiques d'alcaloïdes?

Dans une note relative à cette question, Errera (²) fait remarquer que les effets de la plupart de ces réactifs sur les matières protéiques présentent de telles analogies avec ceux qu'ils exercent sur les alcaloïdes, qu'il y a lieu de craindre une confusion, et il applique, afin de l'éviter, la méthode de Stas à la recherche microscopique des alcaloïdes.

Quand des cellules ont donné les réactions générales des alca-

---

(¹) J.-Af. Klercker, *Une méthode pour isoler les protoplastes vivants.* (Traduit par De Wildeman, Bull. de la Soc. belge de microsc., t. XIX, 1893, p 105.)

(²) L. Errera, *Sur la distinction microchimique des alcaloïdes et des matières protéiques.* (Mém. de la Soc. belge de microsc., t. XIII, 2ᵉ fasc., 1889.)

loïdes et des matières protéiques, on les plonge dans « l'alcool tartrique » (1 g. ac. tart. crist. dans 20 c. c. alc. abs.); au bout d'un temps d'immersion qui peut varier de quinze minutes à vingt-quatre heures suivant la nature des tissus, on fait agir les mêmes réactifs sur les mêmes coupes : si les cellules en question renfermaient un alcaloïde, il aura disparu, enlevé par l'alcool tartrique, et les réactifs indiqueront cette disparition; si, au contraire, ces réactifs agissent alors comme avant l'action du dissolvant, c'est que l'on se trouve en présence de matières protéiques.

Il sera, du reste, facile de contrôler l'existence de ces dernières par des réactions qui leur sont propres et entre autres par celles de Piotrowski et de Millon.

C'est cette méthode que nous avons suivie dans l'étude de quelques Solanacées dont les chimistes ne s'étaient pas occupés jusqu'ici, et elle nous a permis de déceler la présence d'alcaloïdes dans *Nicandra physaloïdes*, *Physalis Alkekengi*, *Petunia violacea*, *Salpiglossis sinuata* et *Brunfelsia americana.*

Errera a déjà contrôlé les indications fournies par les procédés microchimiques en isolant l'alcaloïde qu'ils lui avaient permis de découvrir dans *Narcissus Pseudo-Narcissus.*

Clautriau en a fait autant pour un alcaloïde que les méthodes microchimiques avaient révélé dans quelques Orchidées (¹).

Sans le vouloir, nous avons procédé à une vérification analogue. Ayant soumis des organes de *Caltha palustris* à l'action des réactifs dont nous avons parlé plus haut, nous y avons découvert et localisé un alcaloïde assez abondant : or, des recherches bibliographiques faites à ce sujet nous ont appris qu'une base végétale volatile comme la nicotine a été extraite de cette plante par Johanson (²).

Lorsque la nature des alcaloïdes extraits d'un végétal a été bien définie, il semblerait que le physiologiste pût demander à la

---

(¹) De Wildeman, *Présence et localisation d'un alcaloïde dans quelques Orchidées.* (Bull. de la Soc. belge de microsc., t. XVIII, 1892.)

(²) Husemann, *Die Pflanzenstoffe*, I, p. 606.

microchimie de lui fournir des indications précises sur le siège de *chacune* des bases diverses qu'il renferme. Mais il ne peut en être ainsi qu'à condition que ces alcaloïdes jouissent de réactions caractéristiques observables au microscope. Et en ce qui concerne l'atropine, l'hyoscyamine et l'hyoscine, ces réactions nous ont fait complètement défaut.

Le rapide parallèle que nous allons établir entre ces alcaloïdes permettra de se faire une idée de la difficulté du problème.

L'atropine se présente en cristaux qui fondent vers 113°5. Son chloraurate est formé de cristaux assez confus, à aspect terne, fusibles à 135°. C'est un corps optiquement inactif.

Obtenue aussi à l'état cristallisé, l'hyoscyamine fond à 108°. Avec le chlorure d'or, elle donne un sel formé de belles lames brillantes à facettes rectangulaires et fusibles à 159°. Elle dévie à droite le plan de polarisation.

L'hyoscine est amorphe, incolore, demi-fluide. Son chloraurate est formé de beaux prismes jaunes, assez larges et modérément brillants. Leur point de fusion est encore plus élevé que celui du chloraurate d'hyoscyamine. L'hyoscine dévie à gauche le plan de polarisation.

Les alcaloïdes ne se rencontrant dans le suc cellulaire que combinés à des acides organiques, l'état et l'aspect de ces corps à l'état libre ne peuvent guère être utilisés en microchimie.

Nous espérions tirer quelque parti de la forme et de l'éclat des cristaux que l'on obtient par l'action du chlorure d'or, déjà choisi par Ladenburg et Regnauld comme réactif caractéristique ; mais à l'intérieur des cellules, nous n'avons pas observé de cristallisation après que nous l'avions fait agir, ce qui tient sans doute à la présence d'autres corps en dissolution dans le suc cellulaire.

L'action de l'iodure de potassium iodé ne nous a pas fourni non plus de résultat décisif.

Lorsque l'on dépose une goutte de sulfate d'atropine en dissolution dans l'eau sur le porte-objet du microscope et qu'on y fait arriver le réactif iodé, il se forme instantanément une foule de sphérules liquides, brunes, qui, en se fusionnant, donnent naissance à des sphérules plus volumineuses. Au bout de quelques minutes, des cristaux, le plus souvent en croix, prennent naissance çà et là, et les sphérules voisines diminuent rapidement pour disparaître enfin, laissant une aréole libre de précipité autour du cristal qui s'accroît rapidement.

Si l'on remplace le sulfate d'atropine par l'hyoscyamine du commerce, qui est, selon Ladenburg, un mélange d'hyoscyamine et d'hyoscine, la première phase du phénomène est analogue, mais les sphérules, moins fluides, sont souvent déformées et s'agrègent de différentes façons : quelques cristaux se produisent ensuite.

L'hyoscine donne, avec l'iode, un précipité noir, huileux, de periodure d'hyoscine : les sphérules qui le constituent ne donnent naissance à aucun cristal.

Dans le suc cellulaire, on n'observe habituellement que la première phase du phénomène. Quand l'action du réactif est assez rapide, des sphérules, parfois assez volumineuses, prennent naissance au sein de la vacuole et quand, au bout de quelque temps, elles disparaissent, le précipité vient se reformer contre les parois de l'utricule cytoplasmique et en quelque sorte s'y incruster.

L'acide phosphomolybdique, l'iodure double de potassium et de mercure et le chlorure d'or agissent sensiblement de même sur chacun de ces trois alcaloïdes.

Le premier de ces réactifs donne un précipité jaunâtre que l'ammoniaque dissout en le colorant en bleu, les deux autres produisent des précipitations grisâtres plus ou moins foncées.

Les réactions de Vitali et d'Arnold ne sont pas plus caractéristiques que les précédentes : elles conviennent aux trois alcaloïdes.

Entre ces corps, la ressemblance est poussée plus loin. Schmidt (¹), en maintenant l'hyoscyamine à une température un peu plus élevée que le point de fusion de l'atropine (115°-120°), l'a transformée en cette dernière base. Will et Schering ont réalisé la même métamorphose.

(¹) SCHMIDT, *Ber. d. Chem.*, 5, S. 1888, VIII, 1717.

Ladenburg a démontré que l'une et l'autre se dédoublent en tropine et acide tropique, tandis que l'hyoscine, dans les mêmes conditions, fournit de l'isotropine et de l'acide tropique.

Toutes trois exercent sur la pupille et sur les fibres musculaires la même action physiologique.

Dans les végétaux où l'on a signalé l'existence simultanée de deux ou trois de ces bases, nous ne nous sommes occupé que de déterminer par les indications de l'iode, de l'acide phosphomolybdique, de l'iodure double de potassium et de mercure, les éléments où se forment les précipités attribuables à l'un ou à l'autre des trois alcaloïdes mydriatiques, sans pouvoir fixer la part qui revient à chacun d'eux dans la production des phénomènes observés.

En étudiant *Atropa Belladona*, De Wèvre (1) a admis que ce végétal ne renfermait que de l'atropine, ce qui n'est pas conforme aux conclusions de Ladenburg et de Schütte relatives à ce point. Les réactifs employés n'étant pas caractéristiques de l'atropine, ses localisations ne doivent être envisagées que comme localisations d'alcaloïdes mydriatiques.

Un seul alcaloïde a été signalé dans les diverses espèces du genre *Nicotiana :* c'est la nicotine.

Quand on la traite en solution acétique par l'iodure de potassium iodé, il y a d'abord production de sphérules liquides à reflet bleuâtre; elles se décolorent très vite sans donner naissance à aucun cristal.

L'iodure double de mercure et de potassium détermine, même dans des solutions très diluées, un précipité gris jaunâtre granuleux. Des sphérules d'un beau jaune prennent naissance dans ces mêmes solutions, sous l'influence de l'acide picrique, tandis que le chlorure d'or provoque un précipité abondant de sphérules jaunâtres assez peu fluides qui s'agglutinent de différentes façons. L'acide phosphomolybdique précipite aussi les solutions de nicotine en jaune : le précipité ne se dissout pas en bleu dans l'ammoniaque.

---

(1) De Wèvre, *Localisation de l'atropine.* (Bull. des séances de la Soc. belge de microsc., octobre 1887.)

A froid, l'acide sulfurique colore la nicotine en rouge vineux, mais cette coloration est assez difficilement observable quand les solutions sont très diluées.

A chaud, l'acide chlorhydrique la colore en rose pâle; cette teinte se change en une belle coloration violette par addition d'acide azotique. La première phase de cette réaction n'est pas très prononcée, et nous n'avons même pas toujours pu l'observer; mais la seconde est très nette. Elle permettrait de déceler la présence de la nicotine dans certains tissus riches en substances protéiques, comme l'albumen et l'embryon, où il est très difficile de suivre l'action des réactifs précipitants. Si, dans ces tissus, l'action de l'acide chlorhydrique peut encore paraître douteuse, puisqu'à chaud il colore en violet certaines substances albuminoïdes, l'action ultérieure de l'acide azotique est décisive, car elle aurait pour effet de colorer ces dernières en jaune.

Parmi les réactifs de la nicotine et des alcaloïdes mydriatiques, les tanins méritent de nous occuper un instant d'une manière spéciale. Ils produisent dans les solutions neutres de ces bases un précipité blanchâtre qui se redissout par l'addition d'une faible quantité d'acide acétique. La solution précipite de nouveau si on la neutralise, mais elle s'éclaircit dès qu'elle acquiert une réaction franchement alcaline.

Il n'y a donc pas lieu de s'étonner si le suc cellulaire acide de certains éléments donne à la fois les réactions des alcaloïdes et des tanins : c'est ce qui arrive fréquemment dans les cellules épidermiques.

Une solution alcaline très diluée provoque dans ces éléments une précipitation de sphérules incolores analogues à celles que Loewe et Bokorny (¹) ont obtenues au moyen de solutions de caféine et de carbonate d'ammonium, notamment dans les cellules épidermiques d'*Echeveria*.

(¹) Th. Bokorny, *Ueber Aggregation.* (Jahrb. f. wiss. Bot., t. XX, 1889.)

A l'état naturel même, il n'est pas rare de rencontrer dans les mêmes cellules des sphérules brillantes et parfois assez volumineuses, qui donnent les réactions des tanins et des alcaloïdes et condensent les matières colorantes que le suc cellulaire tient parfois en dissolution.

Ces sphérules ne se présentent pas dans une cellule isolée, mais dans toutes ou presque toutes les cellules avoisinantes, et il faut sans doute les attribuer aux modifications que subit le liquide de la vacuole, par suite des réactions chimiques dont la cellule est le siège.

Si l'on fait agir lentement sur ces cellules l'iodure de potassium iodé, on voit encore se former dans le suc cellulaire des sphérules incolores qui brunissent ensuite sous l'influence de l'iode (fig. 7). Il est assez vraisemblable que le cytoplasme tué lentement par le réactif laisse écouler dans le suc cellulaire du phosphate alcalin qui, en le neutralisant, produit un précipité de tannate d'alcaloïde, précipité que l'iode ne colore que plus tard. L'action rapide de l'iode donne immédiatement un précipité brun.

Bien que la solanine ne soit pas un alcaloïde proprement dit, nous l'avons comprise dans le cadre de nos recherches, à cause de ses fonctions alcaloïdiques et de la facilité avec laquelle elle donne naissance, par voie de dédoublement, à la solanidine, alcaloïde que Jorissen (1) a signalé en mélange avec elle dans les jeunes pousses de *Solanum tuberosum*.

En solution dans l'eau additionnée d'une goutte d'acide acétique, la solanine est précipitée en jaune pâle par l'acide phosphomolybdique et colorée par l'iodure de potassium iodé en rouge brun ou en jaune rougeâtre, d'après le degré de concentration du liquide.

Ni les tanins, ni l'acide picrique, ni le chlorure d'or, ni l'iodure double de mercure et de potassium ne précipitent les solutions pures; mais dans des solutions de tannate de solanine, nous avons obtenu avec l'iodure de potassium iodé un précipité brun jaunâtre; avec l'acide picrique, un précipité jaune, et avec le chlorure d'or, un précipité jaune pâle.

---

(1) Jorissen, *Les phénomènes chimiques de la germination*. (Mém. cour. de l'Acad. roy. de Belgique, t. XXXVIII.)

Le réactif de Mandelin (solution à $^1/_{1000}$ de vanadate d'ammonium dans l'acide sulfurique) colore la solanine en jaune-orange d'abord, en rouge ensuite et enfin en violet. Comme l'a observé Wothschall (¹), la substitution de l'acide sulfurique trihydraté à l'acide sulfurique concentré ne nuit pas à la sensibilité du réactif, et sous cette forme, que nous avons adoptée, il acquiert en microchimie une valeur beaucoup plus grande.

Une solution de séléniate de sodium dans l'acide sulfurique dilué (réactif de Brandt), chauffée avec de la solanine, prend une coloration rouge-framboise qui pâlit bientôt pour prendre une teinte brune.

Enfin, l'acide sulfurique colore la solanine en orangé, puis en rouge et ensuite en violet.

Concentré, ce dernier a été employé par Theorin (*loc. cit.*) pour localiser la solanine dans *Solanum tuberosum*; et légèrement additionné d'eau, il a servi à Schaarschmidt pour étudier microchimiquement la répartition de ce corps dans *Solanum tuberosum*, *Solanum nigrum*, *Solanum Dulcamara*, *Capsicum annuum*, *Lycopersicum esculentum* et *Mandragora officinalis*.

En se bornant aux indications d'un seul réactif, dont l'action sur la solanine est d'ailleurs loin d'être caractéristique, l'un et l'autre se sont maintes fois trompés.

Wothschall, qui a fait une étude détaillée des réactifs de la solanine, considère les trois réactifs que nous avons mentionnés en dernier lieu comme seuls applicables à la microchimie et comme pouvant fournir des indications probantes sur la localisation de ce glycoside.

Cependant, quand on les fait agir sur des coupes de graines, ils donnent naissance à une production plus ou moins abondante de

---

(¹) WOTHSCHALL, *Ueber d. mikrochemischen Reactionen des Solanins.* (ZEITSCHR. FÜR WISS. MIKROSKOPIE, 1889, pp. 19-38, 182-195.)

furfurol, et la substitution de l'acide sulfurique trihydraté à l'acide sulfurique concentré dans le réactif de Mandelin ne suffit pas à supprimer cette cause d'erreur, bien qu'elle l'atténue notablement.

En extrayant la solanine de ces coupes au moyen d'alcool amylique à chaud ou d'alcool ordinaire additionné d'acide tartrique, nous avons pu déterminer les colorations dues au furfurol. Mais les trois réactifs que Wothschall considère comme caractéristiques de la solanine réagissent de même avec la solanidine, et il reste à déterminer auquel de ces deux corps sont dues les colorations observées.

Or, la solanidine donne avec l'iode un précipité jaune brun; avec l'acide picrique, un précipité jaune très soluble dans l'acide acétique; avec le chlorure d'or, de même qu'avec l'iodure double de potassium et de mercure, un précipité jaune pâle; avec le tanin, un précipité blanc peu soluble dans l'acide acétique.

Dans les cellules qui ne renferment pas de tanin, l'action de ces derniers réactifs indiquera si l'on se trouve en présence du glycoside ou de l'alcaloïde qui en dérive.

L'existence de solanidine dans les pousses étiolées de pommes de terre faisait prévoir la possibilité de la présence simultanée de ces deux corps dans le suc cellulaire.

Pour élucider cette question, nous avons mélangé des solutions de solanine et de solanidine. Dans ce liquide, l'iodure de potassium iodé a produit un précipité rouge brun, à apparence de gelée, assez difficile à distinguer d'un liquide sur le porte-objet, tellement les granulations en sont fines, mais présentant le plus souvent des plissements qui rendent le doute impossible (fig. 8, *a*).

Lorsque la solanine est fort prédominante, le précipité, facile à observer à l'arrivée du réactif, ne se distingue plus que très difficilement ensuite du liquide brun produit par l'action de l'iode sur la solanine.

L'iode est, d'ailleurs, le seul réactif qui ne se soit pas comporté avec ce mélange comme avec la solanidine pure, mais son action est topique, et en étudiant les pousses étiolées de pomme de terre, nous avons vu se produire à l'intérieur des cellules les différentes phases de ce phénomène, d'autant mieux marquées que le réactif diffuse lentement au travers du cytoplasme.

Il se produit d'abord contre les parois de ce dernier des granules jaunâtres, parfois assez volumineux, irréguliers, mais à angles arrondis (fig. 8, *b*) : c'est le précipité qui naît en différents points. Bientôt ces îlots se réunissent vers l'intérieur de la vacuole ; puis, prenant la teinte brunâtre du milieu ambiant, ils semblent s'y redissoudre (*c*). Cependant, plus tard, par suite des modifications de forme que prend la masse précipitée et devenue gélatineuse, on parvient à la distinguer de nouveau avec facilité (*d*).

Il est du reste possible d'enlever au suc cellulaire la solanidine qu'il renferme, en laissant séjourner quelques-unes des coupes à étudier dans le chloroforme : celui-ci n'enlève pas la solanine de ses solutions alcalines ou acides, tandis qu'il en extrait la solanidine.

Dans des coupes ainsi traitées, la réaction de Mandelin diminue notablement d'intensité et l'iodure de potassium iodé ne donne plus qu'une coloration jaune, comme celle que le réactif produit dans une solution diluée de solanine.

En résumé, pour localiser la solanine, les trois réactifs dont s'est servi Wothschall ne sont pas suffisants, et il est nécessaire d'en contrôler les indications. D'autre part, ces réactifs ont encore le grave défaut de ne localiser qu'avec peu de précision, car en présence de solutions diluées, les colorations qu'ils provoquent ne se produisent pas vite, tandis que l'utricule cytoplasmique, que leur contact tue immédiatement, laisse écouler le suc cellulaire avec la solanine qui s'y trouve dissoute. C'est ainsi que Wothschall a signalé la présence de solanine dans les membranes cellulaires où il n'en existe pas dans les tissus vivants.

Avec les autres réactifs, au contraire, les éléments à glycoside demeurés intacts se dessinent nettement dans les coupes étudiées, et il serait impossible, sans y avoir recours, de rien décider relativement aux questions de détail, comme la présence de glycoside dans un suc cellulaire coloré et son siège précis dans la cellule, questions qui ont cependant leur importance au point de vue physiologique.

LOCALISATION DES ALCALOÏDES.

1. Nicandra physaloïdes.

A. Historique. — Nous n'avons trouvé dans la littérature aucune communication relative à l'alcaloïde contenu dans cette plante.

B. Action des réactifs. — On obtient dans les tissus, par l'iodure de potassium iodé, un précipité brun à reflet bleuâtre; par le chlorure d'or, un précipité jaune sale; par l'acide picrique, un précipité jaune.

Ni l'acide phosphomolybdique, ni l'iodure double de mercure et de potassium, ni le tanin ne donnent de précipité bien observable dans les cellules.

C. Localisation. — *Tige*. — Les cellules initiales du cône végétatif et celles qui en sont récemment issues, y compris les plus jeunes ébauches foliaires, ne renferment que peu ou point d'alcaloïde. A partir de là, si l'on en juge par l'abondance des précipités, les divers éléments non encore différenciés de la tige en acquièrent des quantités de plus en plus grandes jusque vers l'insertion des feuilles qui recouvrent comme un capuchon le point végétatif.

A mesure que les tissus se différencient, l'alcaloïde se retire de l'anneau procambial pour se localiser dans la moelle et l'écorce, mais surtout près des libers. Enfin, il abandonne à peu près complètement tous les autres tissus pour se confiner dans les stéréides, où il se maintient en grande abondance sur toute la longueur de la tige. Vers le bas de celle-ci, il y en a sensiblement plus dans les stéréides qui accompagnent le liber interne.

Feuilles. — Comme nous l'avons déjà dit, les plus jeunes ébauches foliaires ne renferment que très peu d'alcaloïde. A mesure qu'elles se développent, elles en accumulent de plus en plus dans tous leurs éléments; mais avec la différenciation des tissus coïncide l'émigration de la base vers les épidermes et vers les libers où elle s'accumule dans les stéréides extra-libériennes. La feuille n'a pas encore atteint son complet développement, que ces derniers éléments sont les seuls où les réactifs décèlent encore la présence d'un alcaloïde.

Poils. — Les poils articulés encore jeunes donnent dans le voisinage des parois un précipité d'alcaloïde; dans la suite, la base en disparaît tout à fait.

Racine. — Les cellules de la coiffe, de même que celles de l'assise pilifère, sur une étendue de quelques centimètres à partir du sommet, et les cellules du périblème et de l'écorce jeune sont très riches en alcaloïde.

Nous n'en avons pas observé dans les parties adultes protégées seulement par la couche épidermoïdale, que la destruction de l'assise pilifère avait mise à nu. Mais avec le recloisonnement de ces cellules pour donner naissance à du liège protecteur coïncide toujours la réapparition de l'alcaloïde. Il occupe habituellement les deux éléments les plus internes des séries radiales.

Chez les racines de *Nicandra physaloïdes,* la production du liège est d'ailleurs assez limitée et fort irrégulière, et il faut sans doute la considérer comme un moyen de protection contre l'attaque des parasites.

Organes de la fructification. — Dans le calice et la corolle, l'alcaloïde se comporte comme dans les feuilles végétatives, c'est-à-dire qu'après avoir rempli tous les tissus, il se retire près des faisceaux et dans les épidermes, puis disparaît enfin à peu près complètement.

Le même fait se produit chez les étamines où l'alcaloïde séjourne encore en dernier lieu autour du faisceau qui parcourt le filet et le connectif.

Dans le fruit, le contenu alcaloïdique diminue avec la maturation. Il s'y conserve le plus longtemps dans les épidermes du péricarpe et dans les ovules.

L'assise extérieure des ovules en renferme d'abord une quantité notable, de même que les cellules les plus proches du sac embryonnaire où l'albumen est en voie de formation. Mais l'alcaloïde diminue peu à peu avec les modifications que subissent les parois des cellules externes et l'écrasement des cellules sous-jacentes.

La graine n'en contient plus.

Bien que les parties les plus jeunes du point végétatif brunissent fortement par l'iode, de même que les têtes des poils sur les organes adultes, on ne peut en attribuer la cause à un alcaloïde : cela résulte à l'évidence des réactions obtenues après une longue immersion dans l'alcool tartrique.

Il résulte de la comparaison de nombreux points végétatifs que la topographie de l'alcaloïde au point végétatif varie et semble dépendre de l'activité de la végétation.

2. Atropa Belladona.

A. Historique. — En 1831, Mein a extrait de la Belladone un alcaloïde auquel il a donné le nom d'*atropine* ([1]). En 1880, Ladenburg ([2]) y signala en outre l'*hyoscyamine*.

Une note du Laboratoire chimico-pharmaceutique de Berlin affirme que la racine de Belladone ne contient que de l'hyoscyamine.

Schmidt et Will ayant observé la facile métamorphose de l'hyoscyamine en atropine, Schütte ([3]) s'assura que les procédés employés jusque-là pour extraire l'atropine pouvaient avoir opéré la métamorphose.

Il résulte, en effet, de ses recherches, faites avec les précautions voulues pour éviter toute métamorphose, que dans les racines de

---

([1]) Husemann und Hilger, *Die Pflanzenstoffe. Atropin*, p. 1182.

([2]) Ladenburg, *Die Alkaloïde aus Belladona, Datura, Hyoscyamus und Duboisia*. (Ber. der Deut. Chem. Ges., 1880, p. 909.)

(3) Schütte, *loc. cit.*

plantes de un à deux ans, il ne préexiste que de l'hyoscyamine, tandis que dans les racines de Belladone plus âgées, il se trouve un peu d'atropine, à côté d'une quantité plus considérable d'hyoscyamine.

Dans le jeune fruit, il n'a trouvé que de l'hyoscyamine, et dans les fruits mûrs, seulement de l'atropine chez les plantes sauvages, et un mélange des deux bases chez les plantes cultivées, de sorte que la transformation que l'on peut opérer artificiellement s'accomplit aussi sous l'influence de causes naturelles.

D'après Kratter (¹), l'action nocive des feuilles de Belladone est beaucoup plus élevée que ne le serait la dose d'alcaloïde que l'analyse y indique, et l'action qu'elles produisent sur l'organisme est très différente de celle des alcaloïdes mydriatiques isolés. D'où il semble résulter que la plante doit encore contenir d'autres corps vénéneux.

En effet, H. Kunz (²) en a extrait, en 1886, une petite quantité de bilineurine ou choline. En même temps, il en a retiré la substance fluorescente que les recherches toxicologiques avaient toujours fait observer à côté de l'atropine dans les cas d'empoisonnement par les organes mêmes de la plante. Cette substance, qu'il a désignée sous le nom d'acide chrysatropique, avait déjà fait l'objet des recherches de Paschkis (³), qui la considère comme identique à la scopolétine signalée par Eykmann dans *Scopolia japonica*. Les réactions que Paschkis attribue à l'acide chrysatropique indiquent qu'il est assez analogue aux tanins : en solution aqueuse, il est précipité en vert par le chlorure ferrique, et en bleu par le chlorure d'or; de plus, dans les cellules qui nous ont donné ces réactions, nous avons obtenu une coloration brun rouge par le bichromate de potassium, et un précipité blanc par le carbonate d'ammonium.

Quelque lien de parenté unit-il cette substance fluorescente aux

---

(¹) Kratter, *Archives de l'anthropologie criminelle* (cité par Florence, *loc. cit.*, p. 98).

(²) Kunz, *Ueber einige neue Bestandtheile der Atropa Belladona.* (Arch. Pharm., (3), 23, 721-735.)

(³) Paschkis, *Refer. in Just's botan. Jahresbericht*, 1886, p. 229.

alcaloïdes mydriatiques, comme semble l'indiquer la dénomination de Kunz? Un fait à noter, c'est qu'on la rencontre en même temps qu'eux dans *Atropa Belladona, Hyoscyamus niger* et *Scopolia japonica*, comme l'ont constaté Kunz et Paschkis. Il est fort probable qu'elle ne manque pas non plus dans *Datura Stramonium*, quoique Dragendorff ne l'y ait pas observée, car il existe à côté de l'alcaloïde, dans l'épiderme du fruit et les téguments de la graine, une substance qui se comporte comme elle avec les réactifs dont nous avons parlé plus haut.

Les autres Solanacées renferment d'ailleurs aussi, mais en quantités très variables, des substances analogues, qui se localisent à peu près comme elles et auxquelles nous donnerons provisoirement le nom de tanins, en l'absence de dénominations plus précises.

Relativement à la quantité totale des alcaloïdes contenus dans la plante, on se trouve en présence des résultats les plus contradictoires, ce qui porte à penser que des causes multiples tendent continuellement à en modifier la teneur.

Lefort (¹), qui a recherché comment l'alcaloïde varie avec les diverses périodes de la végétation, conclut que c'est entre la floraison et la maturité du fruit que le rendement en alcaloïde de la Belladone est le plus élevé.

Günther (²) a trouvé que les fruits non mûrs renferment 0.955 °/₀ d'alcaloïde, et les fruits mûrs seulement 0.805 °/₀.

Des analyses de Schütte (*loc. cit.*), il résulte que le contenu alcaloïdique des racines d'*Atropa Belladona* s'élève du printemps à l'été, diminue en automne pour s'abaisser encore pendant l'hiver ; la production de l'alcaloïde est donc intimement liée à l'activité de la végétation. Impossible de tirer de ces recherches des conclusions plus précises au point de vue de la physiologie. En soumettant à l'analyse toutes les racines de plantes ayant atteint un même âge, on opère en réalité sur des organes qui se trouvent dans des phases de végétation fort différentes et l'on arrive à des moyennes qui

---

(¹) Lefort, *Journal de pharmacie*, XV, 1872, p. 417.

(²) Günther, *Viertelj. Pharm.*, XIV, p. 598.

n'apprennent rien ou fort peu de chose relativement à l'évolution de l'alcaloïde dans les tissus de ces mêmes organes.

En ce qui concerne la différence qui existerait, d'après Gerrard [1], dans la teneur en alcaloïde des Belladones sauvages et des Belladones cultivées, n'y aurait-il pas lieu de ne pas s'en tenir à des variations aussi vagues et de rechercher l'influence de certains agents bien déterminés, tels que le milieu nutritif, la lumière, la chaleur, etc. ?

B. ACTION DES RÉACTIFS. — L'iodure de potassium iodé produit dans les cellules à alcaloïde d'*Atropa Belladona* un précipité de sphérules brunes à reflet bleuâtre qui sont bientôt remplacées par des incrustations amorphes de l'utricule protoplasmique. Si l'on fait agir le réactif sur des coupes non lavées, on observe de nombreux cristaux dans la préparation et surtout dans les stéréides entamées par le rasoir. Nous n'en avons pas vu dans les éléments encore en vie à l'arrivée du réactif.

Dans certaines cellules, et notamment dans les cellules épidermiques, le précipité revêt un autre aspect : il prend la forme de sphérules qui naissent incolores, sont agitées d'un vif mouvement brownien et se fusionnent en sphères plus volumineuses. Il est probable que ces éléments renferment, en même temps qu'un alcaloïde, une certaine quantité d'acide chrysatropique, car ils fournissent aussi les réactions des tanins.

L'acide phosphomolybdique produit dans les cellules à alcaloïde de la Belladone un précipité jaune, facilement observable, que l'ammoniaque redissout.

Le chlorure d'or y produit un précipité jaune beaucoup plus pâle. Dans les cellules qui renferment de l'acide chrysatropique, ce précipité, rapidement réduit, communique au suc cellulaire une coloration bleue.

---

[1] A.-W. GERRARD, *On the alkaloidal value of cultivated and wild Belladona plants.* (YEARBOOK OF PHARMACY, 1881, p. 482.)

C. Localisation. — *Tige.* — Les cellules les plus jeunes du point végétatif ne renferment que peu d'alcaloïde. Elles en acquièrent de plus en plus à mesure que de nouvelles formations les éloignent des cellules initiales. Le maximum de concentration de l'alcaloïde est atteint à une faible distance du sommet.

Quand les tissus commencent à se différencier, la base s'accumule vers l'épiderme et vers les libers, sans pourtant abandonner complètement l'écorce ni la moelle. Les vaisseaux, les tubes criblés et les cellules annexes sont, à cet endroit, les seuls éléments qui n'en renferment point. Dans la région plus éloignée du point végétatif, où la tige a reçu un développement secondaire, l'alcaloïde a abandonné tout à fait le parenchyme médullaire et le parenchyme cortical pour se confiner dans le parenchyme voisin des tubes criblés (notamment dans les stéréides) et dans la partie des rayons médullaires contiguë aux libers.

Lorsque le liège a pris naissance, les deux ou trois cellules les plus internes des rangées radiales qui le constituent sont riches en alcaloïde.

Feuilles. — L'alcaloïde, d'abord absent des ébauches foliaires, en remplit ensuite les tissus. Chez les feuilles adultes, on le retrouve encore dans la plupart des éléments vivants, mais d'une manière prépondérante dans les cellules épidermiques (surtout dans celles qui recouvrent les nervures), auprès des faisceaux (principalement dans les stéréides et les cellules parenchymateuses allongées voisines des cordons libériens) et dans les plans médullaires.

Poils. — Les poils jeunes donnent, près des parois transverses, un abondant précipité. Cela tient à ce que le réactif pénètre par ces cloisons, ne pouvant que très difficilement franchir les membranes externes cutinisées. Les têtes des poils glanduleux ne renferment jamais d'alcaloïde.

Racine. — L'alcaloïde est abondant dans la coiffe et le périblème. Il se maintient chez l'organe adulte dans toute l'écorce, y compris l'endoderme. Le cylindre central en est complètement dépourvu, tant que le cambium n'a pas fonctionné ; plus tard, on en observe, mais en quantité minime, dans le parenchyme ligneux secondaire (fig. 9).

Ce parenchyme est prédominant dans les racines d'un certain âge. On n'y rencontre qu'assez peu de vaisseaux lignifiés, et ils constituent souvent des faisceaux isolés au milieu de la masse parenchymateuse. Des cordons libériens évidemment issus du recloisonnement des cellules avoisinantes accompagnent le xylème secondaire.

Weiss (¹) a déjà signalé cette curieuse organisation dans les racines charnues de *Scopolia atropoides* et de *Datura Stramonium*, et il en désigne le liber anormal sous le nom de « xylemständiges Phloem ».

Auprès de ce liber intraxylaire, nous n'avons pas observé que l'alcaloïde fût plus abondant que dans le reste du parenchyme.

Organes de la fructification. — Dans le calice et la corolle, l'alcaloïde se répartit comme dans les feuilles; il diminue rapidement dans la corolle à l'époque où elle va se faner.

Le faisceau qui traverse le filet des étamines est du type concentrique amphicribral ; le liber y est constitué par des tubes criblés ressemblant quelque peu à des hyphes et par des cellules parenchymateuses allongées : aucun de ces éléments ne renferme d'alcaloïde. On en trouve, au contraire, dans les cellules allongées qui constituent au faisceau une sorte de gaine, de même que dans l'épiderme de l'anthère et dans l'assise nourricière du pollen.

Dans le pistil, on rencontre l'alcaloïde : autour des deux faisceaux du style; dans tous les éléments du carpelle, à l'exception des quatre faisceaux (autour desquels il est plus abondant que dans les régions voisines); dans les jeunes ovules et particulièrement dans leur assise superficielle.

(¹) Weiss, *Markständiges Gefässbundelsystem und Blattspuren.* (Botanische Centralblatt, 1883, p. 410.)

La graine étant encore jeune, les cellules de cette assise, qui ont déjà épaissi leurs demi-parois internes, en contiennent encore notablement, de même que les cellules sous-jacentes et surtout celles qui sont contiguës à l'albumen en voie de formation.

L'alcaloïde diminue dans la graine avec la maturation (1); cependant la graine mûre en a conservé dans les tissus écrasés qui constituent son tégument interne.

A l'époque où l'albumen achève d'accumuler les réserves de l'ovule, la baie bleuit, par suite de l'apparition d'une matière colorante dans le suc cellulaire, et l'alcaloïde commence à y diminuer. Quand les tissus du péricarpe se sont ramollis, ils n'en contiennent plus. C'est sans doute à une période antérieure que Günther a dosé l'alcaloïde, car il ne note qu'une faible diminution.

Ni l'albumen ni l'embryon ne renferment d'alcaloïde, mais ils tiennent en réserve beaucoup de matières protéiques et de sucre. La liqueur de Fehling, la réaction de Trommer et le réactif de Molish indiquent une grande abondance de matières sucrées autour du cylindre central du membre hypocotylé de l'embryon, de même que dans ses deux points végétatifs et près des ébauches de faisceau des cotylédons.

Les matières albuminoïdes de l'ovule et de l'albumen donnent les réactions de Millon et de Piotrowski.

En chauffant des coupes de la graine avec l'acide chlorhydrique, l'albumen seul prend une belle coloration violette. De Wèvre (2) n'a obtenu cette réaction avec aucune substance albuminoïde; en présence du sucre, l'acide chlorhydrique colore ces coupes en rose. D'après Wiesner (3), cette réaction devrait être attribuée aux zymases.

---

(1) Cf. Clautriau, *Localisation et signification des alcaloïdes dans quelques graines.* (Ann. de la Soc. belge de microsc. (Mémoires), t. XVIII, 1894, p. 37.)

(2) De Wèvre, *Recherches sur la technique microchimique des albuminoïdes.* (Bull. de la Soc. belge de microsc., t. XX, 1894, p. 108.)

(3) Wiesner, *Sitzungsber. Ak. Wiss. Wien,* Bd XCII, I, 1885, p. 41.

3. Scopolia japonica.

A. Historique. — En 1879, Martins (¹) signalait dans cette plante de la *solanine*.

Selon Langgaard (²), *Scopolia japonica* contient dans ses racines deux alcaloïdes mydriatiques : la *scopoloïne* et la *rotoïne*, mais il n'en fait pas connaître les propriétés distinctives.

Eykman (³) déduit de ses recherches que *Scopolia japonica* renferme un alcaloïde, la *scopoloïne*, et un glycoside (scopoline) décomposable, par les acides dilués à chaud, en sucre et *scopolétine*. D'après lui, la rotoïne de Langgaard et la solanine de Martins sont de la scopolétine.

En 1887, Henschke (⁴) trouva que la racine de *Scopolia japonica* ne renferme pas d'alcaloïde propre, mais un mélange des trois alcaloïdes mydriatiques isomères bien connus ; la rotoïne est un mélange de sels de sodium et d'acides riches en carbone, et la scopolétine d'Eykman n'est autre chose que l'acide chrysatropique signalé aussi par Kunz dans *Atropa* (⁵).

Schütte (⁶) a trouvé dans les extraits de *Scopolia* de l'hyoscyamine en quantité prépondérante et un peu d'atropine.

B. Action des réactifs. — Nous avons obtenu avec *Scopolia japonica* les mêmes réactions qu'avec *Atropa*.

Tige. — Les points végétatifs ne paraissent pas renfermer autant d'alcaloïde que ceux de la tige d'*Atropa Belladona*. Au sommet de racines charnues, nous en avons observé dont toutes les cellules renfermaient uniformément l'alcaloïde ; mais ces points végétatifs étaient à l'état de repos.

(¹) Martins, *Arch. der Pharm.*, Bd CCXIII, S. 336, 1879.

(²) Langgaard, *The American Journal of Pharm.*, vol. LII, 1880, p. 256.

(³) Eykman, *Abhandl. des Tokio Daigaku*, nº 10, S. 17-25 (analysé dans Just's Jahresb., 1883).

(⁴) Henschke, *loc. cit.*

(⁵) Kunz, *loc. cit.*

(⁶) Schütte, *loc. cit.*

Sur des coupes pratiquées dans la partie adulte de la tige, on reconnaît que l'alcaloïde se localise auprès des libers, notamment dans les éléments parenchymateux allongés au milieu desquels courent les cordons libériens, et dans les stéréides. Enfin on ne l'observe plus que dans ces dernières lorsque l'on étudie des régions plus âgées. Avec l'iodure de potassium iodé, nous y avons obtenu des cristaux analogues à ceux que fournissent les sels d'atropine.

Feuilles. — L'alcaloïde est très abondant sur les deux faces des faisceaux et il s'y localise comme auprès des faisceaux de la tige. Nous n'en avons pas observé dans les autres éléments du mésophylle.

Les cellules épidermiques sont assez riches en alcaloïde.

Poils. — L'alcaloïde s'y comporte comme chez *Atropa*.

Racine. — Au point végétatif, la localisation est la même chez tous les types étudiés.

Dans une racine qui n'a pas encore de tissus secondaires, l'alcaloïde se trouve limité à l'écorce. Chez une racine dont le cambium et le phellogène sont en activité, l'alcaloïde se rencontre en outre dans le parenchyme libérien, le parenchyme ligneux, sans s'accumuler auprès du liber intraxylaire, dans la partie des rayons médullaires voisine du liber et de la région cambiale, et dans les deux ou trois couches les plus internes du liège.

Organes de la fructification. — L'alcaloïde s'y localise comme chez *Atropa;* toutefois, nous n'avons pu observer que la fleur et le jeune fruit; nous ignorons si la graine renferme des alcaloïdes à sa maturité.

4. Hyoscyamus niger.

A. Historique (¹). — Peschier, en 1821, et Payen, en 1824, signalèrent comme vraisemblable la présence d'un alcaloïde dans la Jusquiame. Dès 1821, von Brandes retira des semences de cette

---

(¹) Husemann und Hilger, *Die Pflanzenstoffe. Hyoscyamin.*

plante un liquide qu'il prit à tort pour leur principe actif et qu'il appela *hyoscyamine.*

Geiger et Hesse parvinrent à opérer cette extraction en 1833.

En 1881, Ladenburg retira de l'hyoscyamine liquide du commerce, l'hyoscyamine pure cristallisée et un nouvel alcaloïde mydriatique liquide qu'il appela *hyoscine* et que Buchheim avait déjà signalé sous le nom de *sikeranine* (1).

Regnauld a fait remarquer la grande prédominance de l'hyoscine sur l'hyoscyamine dans le suc cellulaire de la Jusquiame, et l'inconséquence qu'il y avait à attacher le nom de cette plante à un alcaloïde qui n'y figure qu'en très faible proportion, tandis qu'il constitue à peu près les deux tiers de l'atropine officinale : pour faire disparaître cette antinomie, il a proposé d'employer désormais, pour désigner l'hyoscyamine de Ladenburg, les termes d'*atropine* β ou d'*atropidine.*

B. Action des réactifs. — Les réactifs des alcaloïdes mydriatiques agissent sensiblement de même sur les tissus de cette plante et sur ceux d'*Atropa Belladona.*

C. Localisation. — *Tige.* — L'alcaloïde abonde dans les cellules des points végétatifs. Dans la région de la tige dont les tissus sont récemment différenciés, on le rencontre assez peu concentré dans l'épiderme, abondamment dans le parenchyme voisin des libers et dans toute l'étendue des rayons médullaires. Les stéréides n'en renferment pas d'une manière prépondérante.

Lorsque l'on fait agir l'iode sur les cellules de l'épiderme, il y naît à l'arrivée du réactif des sphérules jaunâtres qui se fusionnent en sphérules plus volumineuses et brunissent ensuite. Elles manifestent les réactions des tanins, comme leurs analogues de la Belladone (2). On peut d'ailleurs constater directement dans ces cellules la présence d'une assez grande quantité de tanin.

---

(1) Buchheim, *Arch. f. experim. Path.*, 1876, p. 472.

(2) Klercker, *Studien über die Gerbstoffvakuolen*, p. 7.

Feuilles. — Les feuilles ont un parenchyme lacuneux assez serré, dont les éléments, allongés perpendiculairement à la surface de l'épiderme, le font ressembler au tissu palissadiforme supérieur; il en résulte une assez grande épaisseur du limbe. Très jeunes, elles renferment assez bien d'alcaloïde; quand elles ont atteint l'âge adulte, on n'y retrouve que fort peu d'alcaloïde dans les épidermes; ils en sont parfois complètement dépourvus.

Auprès des faisceaux et dans leur intérieur, l'alcaloïde se localise comme dans la tige.

Racine. — Chez les parties jeunes de cet organe, l'alcaloïde ne se rencontre que dans l'écorce. Plus tard, on en observe aussi dans le parenchyme libérien.

Les vieilles racines sont composées de cordons ligneux, d'origine secondaire, entourés de parenchyme qui forme autour d'eux comme une gaine amylifère. Entre ces faisceaux, les tissus sont morts. Le liber présente aussi des stratifications d'éléments morts et d'éléments vivants. De tous ces éléments, le parenchyme libérien seul renferme un peu d'alcaloïde. Au contraire, les éléments internes du liège en contiennent notablement.

Poils. — Les poils sont très longs et très abondants sur tous les organes aériens. Jeunes, ils renferment une certaine quantité d'alcaloïde; plus âgés, ils en sont complètement dépourvus. La tête des poils sécréteurs n'en contient jamais.

Organes de la fructification. — On y constate la même série de phénomènes que dans les organes analogues d'*Atropa Belladona.* La graine mûre renferme encore de l'alcaloïde, mais très peu, dans son tégument interne; plus du tout dans l'autre.

5. Physalis Alkekengi.

A. Historique (¹). — En 1852, Dessaignes et Chautard ont extrait des feuilles de cette plante un alcaloïde pulvérulent, amorphe,

---

(¹) Husemann und Hilger, *Die Pflanzenstoffe. Physalin.*

faiblement jaunâtre, auquel ils ont donné le nom de *physaline*, sans en faire connaître d'ailleurs les réactions caractéristiques.

B. Action des réactifs. — Parmi les réactifs généraux des alcaloïdes, ceux qui sont le plus favorables aux recherches microscopiques sont, dans le cas actuel : l'iodure de potassium iodé, qui produit un précipité jaune brun pâlissant assez vite; le chlorure d'or, qui précipite en jaune pâle, et l'acide phosphomolybdique, qui donne un précipité d'un gris jaunâtre.

C. Localisation. — *Tige*. — L'alcaloïde se distribue au point végétatif comme dans les végétaux précédents, puis il ne se retrouve plus que dans l'épiderme, dans les stéréides et dans les éléments parenchymateux allongés voisins des libers. Auprès des bourgeons, il se maintient cependant dans quelques cellules corticales.

Les rameaux inférieurs des tiges se transforment en rhizomes à deux faisceaux. L'alcaloïde s'y distribue comme dans les tiges aériennes, mais il se maintient plus longtemps dans l'écorce et la moelle.

Feuilles. — Chez des feuilles encore très jeunes, l'alcaloïde est déjà localisé dans l'endoderme amylifère qui accompagne la face inférieure du faisceau, dans les stéréides et les éléments voisins et dans les épidermes. Ceux-ci n'en contiennent plus quand la feuille a terminé sa croissance.

Poils. — Les poils situés à la base des étamines contiennent de l'alcaloïde, mais nous n'en avons pas observé dans ceux qui se développent sur la tige et les feuilles.

Organes de la fructification. — L'alcaloïde y est peu abondant; mais il se localise comme dans les végétaux précédents. Dans le parenchyme des carpelles, les réactifs n'ont décelé sa présence qu'autour des faisceaux.

Les ovules ne renferment que peu d'alcaloïde et la graine n'en contient pas à sa maturité.

6. Solanum tuberosum.

A. Historique [1]. — Baumann signala, le premier, dans les tubercules de *Solanum tuberosum* la présence de la solanine, glycoside découvert, en 1820, par Desfosses dans les baies de *Solanum nigrum*. Cette découverte fut confirmée par de nombreux travaux.

Von Heumann en trouva dans les fruits verts et Otto dans les tiges.

D'après les analyses de Wolff, les pousses étiolées en renferment plus que le tubercule; chez celui-ci, selon Bach, c'est dans l'écorce que le glycoside se localise et il n'y en aurait que vers la base des jets.

Renteln et Hant ont extrait de la solanine des pommes de terre pelées.

Les pousses, affirment Zwenger et Kindt, sont plus riches en solanine quand elles sont plus courtes, et d'après Berchtold la quantité de base qu'elles renferment diminue jusqu'à s'annihiler avec l'accroissement.

Ebermayer croit que le verdissement augmente la teneur en solanine de la Pomme de terre; Berchtold affirme le contraire.

Selon Otto, la quantité de solanine contenue dans le tubercule dépend des variétés étudiées et des conditions de la végétation.

Selon Jorissen, les jets de Pommes de terre renfermeraient en outre de la solanidine. Il en a retiré cette base en les traitant par l'éther éthylique, qui enlève l'alcaloïde et non le glycoside.

Les recherches de l'auteur ne se sont pas étendues à d'autres organes de la plante.

Schütte a observé que l'ingestion des feuilles de *Solanum tuberosum* a pour effet de dilater la pupille; il n'a pas réussi cependant à en extraire un alcaloïde mydriatique, mais il en a retiré de la bétaïne.

---

[1] Husemann und Hilger, *loc. cit.* — Wothschall, *loc. cit.*

B. Action des réactifs. — La plupart des cellules de la Pomme de terre où les réactifs décèlent de la solanine, renferment aussi de la solanidine, car non seulement il s'y forme un précipité à l'arrivée de l'iode, mais le chlorure d'or, l'acide picrique et l'iodure double de mercure et de potassium y font naître des précipités que la solanine ne produit qu'en présence du tanin. Or, l'absence de celui-ci peut être facilement constatée par ses réactifs propres.

Que ce soit la solanidine qui provoque les précipitations déterminées par l'action des réactifs, il est facile de s'en assurer par l'action dissolvante de l'éther ou du chloroforme. Après une immersion prolongée du matériel à étudier dans ces liquides, l'action du réactif de Mandelin est notablement atténuée et l'iode ne provoque plus de précipité, tandis que, comme l'a constaté Jorissen, le corps enlevé par le dissolvant donne les réactions de la solanidine.

C. Localisation. — Le rapport entre les quantités de glycoside et d'alcaloïde contenues dans une même cellule nous a paru assez variable de région à région, et la solanine semble surtout prédominante vers les points végétatifs; mais nous ne pouvons dès maintenant traiter cette question d'une manière suffisamment explicite et nous nous bornerons pour le moment à faire connaître la topographie de la solanine, en faisant remarquer que c'est aussi celle de la solanidine.

Tiges aériennes. — A l'époque de la germination du tubercule, les pousses étiolées sont excessivement riches en glycoside, tant qu'elles ne dépassent pas 2 à 3 centimètres de longueur; elles vont d'abord en s'appauvrissant à mesure qu'elles s'allongent, et si elles restent à l'obscurité, c'est à peine si leurs points végétatifs en contiennent encore quand elles ont atteint une longueur de 30 à 40 centimètres. Quand, exposées à la lumière, elles se développent normalement, le glycoside se maintient en quantité notable au point végétatif. Il s'y localise, comme les alcaloïdes dans les végétaux étudiés antérieurement, et à quelques centimètres du sommet il se retire vers l'épiderme et vers les libers, surtout dans les stéréides, où on le retrouve parfois encore à une grande distance du point végétatif terminal. Les parties âgées de la tige ne contiennent de solanine que dans les ébauches des organes en voie de formation.

Feuilles. — Très jeunes encore, les feuilles renferment uniformément de la solanine dans tous leurs éléments parenchymateux. Cependant, quand on fait agir sur ces organes l'iodure de potassium iodé, on observe que les cellules stomatiques et leurs annexes réagissent fortement, de même que celles de la base de l'organe, quand celui-ci a été séparé de la tige, tandis que les autres demeurent incolores.

Il ne faut voir en ceci que l'effet de la diffusion inégale du réactif, lente au travers des parois externes des cellules épidermiques, rapide au travers des parois minces des cellules qui limitent la chambre stomatique ou la déchirure de l'hypopode. Il suffit de laisser l'iode agir pendant un temps suffisant pour constater l'uniformité de ses effets.

A mesure que la feuille se développe, son contenu en solanine diminue, et quand elle a terminé sa croissance, ni son épiderme ni la plupart des cellules du mésophylle n'en contiennent encore : mais on l'y observe toujours dans les stéréides et quelques éléments allongés situés des deux côtés du faisceau.

Poils. — Nous avons parfois observé des précipités d'alcaloïde dans les poils articulés situés près des points végétatifs, mais en général ils ne renferment pas de solanine, ainsi que l'a déjà indiqué Wothschall.

Tiges souterraines. — La solanine s'y localise comme dans les rameaux aériens; seulement elle s'y conserve dans l'écorce et la moelle à une plus grande distance du point végétatif.

Tubercules. — Pendant leur développement, les tubercules se comportent d'abord comme des tiges étiolées, c'est-à-dire que, très jeunes, ils renferment dans l'épiderme, de même que dans toutes les cellules de la moelle et de l'écorce, une grande quantité de solanine. Mais dans la suite, elle se localise dans l'épiderme ou les cellules les plus internes du liège qui en provient, tant que celles-ci ne sont pas subérifiées, et de moins en moins dans quelques (4-5) cellules sous-jacentes.

On en trouve encore assez abondamment dans les cellules arrondies des lenticelles. Au voisinage des *yeux*, la solanine se comporte comme aux points végétatifs, remplissant les ébauches foliaires et s'accumulant dans le parenchyme médullaire situé sous les cellules méristématiques. Toutes les cellules de ce méristème en repos renferment de la solanine. Ce sont ces cellules qui ont sans doute fourni à Renteln et Hant la solanine extraite par eux des pommes de terre pelées.

On trouve fréquemment dans les tissus de la Pomme de terre des cellules mortes enkystées en quelque sorte par du liège. Là encore la solanine abonde dans les cellules de liège les plus jeunes, quelle que soit d'ailleurs la situation, profonde ou superficielle, des éléments ainsi isolés (1).

Si l'on coupe un tubercule, les cellules qui se recloisonnent bientôt pour développer le liège protecteur et les cellules sous-jacentes deviennent riches en solanine, sans que les éléments où l'on en avait constaté antérieurement paraissent en perdre.

Comme dans le phénomène de la germination, il y a sans aucun doute augmentation de la quantité totale de solanine, et le glycoside formé résulte de la transformation des matières de réserve au moment où celles-ci doivent être utilisées pour l'édification de tissus nouveaux.

En exposant des tubercules à la lumière, nous n'avons pu observer, lors du verdissement, une modification sensible de leur contenu en solanine.

---

(1) C'est à un phénomène de même ordre, sans doute, qu'il faut attribuer l'accumulation de solanine que Wothschall observe auprès des suçoirs de *Cuscuta Europaea*, parasite sur *Solanum Dulcamara*.

Racines. — Les matériaux nécessaires à l'étude de leur développement sont fournis en abondance par les tiges étiolées qui ont une tendance bien caractérisée à en produire auprès des bourgeons.

Au moment où les cellules péricycliques commencent à se dédoubler pour produire la jeune racine, on peut constater que toutes les cellules de la plaque méristématique formée (fig. 11) renferment de la solanine en abondance. En même temps elle réapparaît en quantité assez faible dans le parenchyme cortical avoisinant.

A un stade plus avancé, le glycoside se localise dans la coiffe et le périblème. Ces assises renferment l'une et l'autre beaucoup de tanin, mais dans le périblème, les cellules tannifères forment des groupes constitués par le recloisonnement d'un même élément à une certaine distance des cellules initiales, et ces groupes alternent avec d'autres qui sont tout à fait dépourvus de tanin.

La coiffe et le périblème de l'embryon sont déjà riches en tanin : nous n'avons trouvé cette substance dans l'embryon d'aucune autre espèce.

La racine adulte ne donne pas de réaction de solanine.

Organes de la fructification. — Bien que peu abondante dans ces organes, la solanine s'y trouve en quantité plus considérable que dans les autres parties aériennes. Theorin, qui ne la signale positivement ni dans la tige ni dans les feuilles, l'a observée dans le fruit. Elle s'y localise surtout dans les épidermes. On en observe dans le tégument externe de l'ovule et l'assise nourricière de l'albumen. Le glycoside y diminue avec la maturation; cependant les réactifs en décèlent encore des traces dans les téguments de la graine. La solanine s'y trouve retenue au milieu de tissus morts par des déchets provenant des cellules à l'intérieur desquelles elle était d'abord dissoute. On constate souvent aussi, dans les cellules appartenant au liège des tubercules, des granules solides (fig. 12, *g*) renfermant beaucoup de solanine : ils s'y sont formés par un processus analogue. Pendant la vie de la cellule, la solanine est toujours dissoute dans le suc de la vacuole, et les affirmations contraires de Theorin et de Wothschall ne peuvent s'expliquer que par l'insuffisance de leurs réactifs.

7. Solanum Dulcamara.

A. HISTORIQUE. — En 1821, Desfosses signala dans cette plante la présence de la solanine; Legrip, Wackenröder et Clarus confirmèrent successivement cette découverte.

Cependant Moitessier a obtenu pour l'alcaloïde de *Solanum Dulcamara* une formule différente de celle de la solanine et Kletzinsky est arrivé au même résultat.

Hilger, en se basant sur de nouvelles analyses, pense cependant que ces chimistes ont pris pour de la solanine pure un mélange de solanine et de solanidine.

B. ACTION DES RÉACTIFS. — Le principe contenu dans *Solanum Dulcamara* donne, avec le réactif de Mandelin et l'acide sulfurique concentré, les mêmes colorations que la solanine et la solanidine. Mais l'iodure de potassium iodé détermine, dans le suc cellulaire où il est dissous, la formation de sphérules assez fluides rappelant celles que fournissent la nicotine et les alcaloïdes mydriatiques; seulement elles naissent jaunâtres et prennent ensuite une teinte plus ou moins brune.

Comme dans les solutions de solanidine, l'acide picrique donne un précipité de granules jaunes, solubles dans l'acide acétique, et le chlorure d'or, un précipité gris jaunâtre assez abondant.

Nous avons traité à chaud des fragments de tige de Douce-amère par l'eau acidulée d'acide acétique, et l'extrait ainsi préparé nous a fourni les réactions déjà observées dans les tissus. Agité avec l'éther ou le chloroforme, cet extrait n'abandonne qu'une faible quantité d'alcaloïde.

L'action du réactif de Mandelin sur des coupes qui ont séjourné longtemps dans ces liquides, n'est que faiblement atténuée.

Quelle est au juste la composition de cet extrait qui reproduit les réactions du suc cellulaire? Est-ce un mélange de solanine et de solanidine? L'iode ne semble pas l'indiquer.

Mais il pourrait bien renfermer d'une manière prédominante un glycoside spécial que Wettstein a retiré de la plante et qu'il a appelé *dulcamarine*, parce que, selon lui, c'est ce glycoside qui donne à la Douce-amère sa saveur caractéristique.

Geissler a étudié ce corps en 1875. Il est insoluble dans l'eau, l'éther et le chloroforme, mais très soluble dans l'acide acétique. L'acide sulfurique le colore en jaune rougeâtre devenant rouge-cerise. Ne se comporterait-il pas aussi comme la solanine avec le réactif de Mandelin?

Quoi qu'il en soit, en attendant que de nouvelles études aient élucidé cette question, nous appliquerons la dénomination de *dulcamarine* à la substance dissoute dans le suc cellulaire de *Solanum Dulcamara* et donnant les réactions que nous avons indiquées plus haut.

C. Localisation. *Tiges.* — La dulcamarine se localise, avec une concentration qui ne varie qu'aux points végétatifs (où elle atteint un maximum), sur toute la longueur des tiges, dans l'épiderme ou les éléments non encore subérifiés du liège, dans le parenchyme cortical et le parenchyme médullaire entourant le liber interne, la seule partie de la moelle qui soit demeurée vivante. Chez les tiges d'un certain âge, les stéréides fortement épaissies n'en renferment plus, mais l'écorce et la moelle en renferment une grande quantité.

Feuilles. — Le principe actif se rencontre principalement dans les cellules épidermiques et surtout dans celles, plus allongées, qui recouvrent les nervures. Le mésophylle n'en contient que fort peu.

Poils. — Nous n'y avons pas vu de dulcamarine.

Racines. — La dulcamarine se rencontre dans le liège et l'écorce.

Appareil reproducteur. — La topographie de la dulcamarine est conforme au schéma que nous avons donné jusqu'ici de la répartition des alcaloïdes. Elle est particulièrement abondante dans l'assise nourricière du pollen, autour des faisceaux du péricarpe et des placentas et dans l'assise externe de l'ovule qui devient le premier tégument de la graine et qui, même à l'époque de la maturité, renferme encore beaucoup de dulcamarine.

Le réactif de Mandelin donne assez nettement cette localisation dans la graine; mais si l'on essaie de la contrôler par l'acide sulfurique, on obtient dans les deux points végétatifs de l'embryon, dans son épiderme, dans la région endodermique de l'hypocotyle et près des faisceaux des cotylédons, une belle coloration rouge, puis violette. Un peu plus tard, toute la coupe, y compris l'albumen, se trouve colorée en rouge violet.

Nous avons reconnu que cette réaction est due, non à la dulcamarine, mais à la production de furfurol aux dépens de la saccharose. La liqueur de Fehling et la réaction de Trommer accusent enfin la présence de matière sucrée dans l'embryon et aussi, mais en quantité plus faible, dans l'albumen, de sorte que tous les éléments nécessaires à la réaction de Raspail se trouvent en présence.

En faisant agir sur le porte-objet de l'acide sulfurique sur un mélange de peptone et de saccharose, nous avons obtenu identiquement les mêmes résultats.

Par l'action du réactif de Brandt, la dulcamarine, qui n'est pas retenue à l'intérieur des cellules mortes du tégument, se délaie rapidement et ne donne naissance à aucune coloration sensible. Mais l'embryon prend encore une teinte grenat, tandis que l'albumen se colore fortement en violet.

Une belle coloration violette se développe encore dans l'albumen sous l'influence de l'acide chlorhydrique à chaud, non seulement dans la graine mûre, mais pendant que l'albumen se développe aux dépens des réserves de l'ovule.

8. Datura Stramonium.

A. Historique. — En 1880, Ladenburg établit que l'alcaloïde extrait de *Datura Stramonium* est un mélange d'atropine et d'hyoscyamine dans lequel cette dernière base est prédominante.

B. Action des réactifs. — Nous avons obtenu dans les cellules de cette plante les réactions décrites plus haut en étudiant *Atropa Belladona*.

C. LOCALISATION. *Tige.* — L'alcaloïde y est très abondant. C'est du collenchyme sous-épidermique qu'il disparaît d'abord. A une certaine distance du point végétatif, on n'en trouve plus que dans les longues stéréides extralibériennes. Par l'action de l'iode sur des coupes qui n'ont pas été lavées, on obtient de beaux cristaux analogues à ceux que donne le même réactif dans une solution de sulfate d'atropine.

Dans les parties les plus âgées des tiges, le jeune liège seul contient encore de l'alcaloïde.

Feuilles. — Il y a beaucoup d'alcaloïde dans l'épiderme foliaire supérieur, peu dans l'inférieur, abondamment le long des faisceaux, peu ou point dans le reste du mésophylle.

Poils. — Jeunes, ils renferment assez bien d'alcaloïde : le précipité se fait surtout dans les deux articles inférieurs.

Racine. — Dans les racines encore jeunes, on observe beaucoup d'alcaloïde dans le liège et un peu dans l'écorce. La racine est considérablement dilatée vers le collet de la plante. A cet endroit, l'alcaloïde pénètre dans le parenchyme libérien et dans la partie externe des rayons médullaires.

En résumé, la racine renferme peu d'alcaloïde.

Appareil reproducteur. — On trouve beaucoup d'alcaloïde dans les ébauches des organes floraux; il diminue assez vite dans la corolle et les étamines, mais il se maintient en quantité très considérable dans l'ovaire, et notamment dans les épidermes, ici très étendus, à cause des aiguillons qu'ils recouvrent.

Dans l'ovule, il y a aussi beaucoup d'alcaloïde.

La graine mûre en renferme assez bien dans son tégument interne.

Le péricarpe mûr n'en contient plus.

9. Nicotiana Tabacum.

A. HISTORIQUE. — La nicotine est la seule base signalée dans les tabacs.

Des nombreuses analyses faites par Schlösing, Wettstein, Kosutany, il résulte que la teneur des tabacs en alcaloïdes est extrêmement variable. Les diverses variétés cultivées sont plus ou moins riches en nicotine, mais pour une même variété les quantités extraites changent considérablement avec les terrains et sans doute avec d'autres causes à déterminer.

B. RÉACTIFS. — Nous avons déjà indiqué les réactions utilisées pour localiser cette base : ce sont les mêmes qui ont servi à Maistriau pour la localiser dans *Nicotiana macrophylla.*

Tige. — Dans les parties rapprochées du point végétatif, on trouve de la nicotine dans l'épiderme, dans le collenchyme, les stéréides extralibériennes, le parenchyme libérien, le parenchyme ligneux, les rayons médullaires et le parenchyme médullaire. Dans les régions plus âgées, l'alcaloïde se rencontre encore dans l'épiderme. La quantité contenue dans le parenchyme cortical est assez faible. On en trouve un peu dans le parenchyme libérien externe.

C'est surtout dans le parenchyme médullaire que s'accumule l'alcaloïde. Dans des tiges de 2 centimètres de diamètre et portant encore dans toute leur longueur des feuilles en activité, tout ce parenchyme renferme beaucoup d'alcaloïde.

Feuilles. — Dans les feuilles complètement développées, on observe beaucoup d'alcaloïde auprès des libers et parfois aussi dans le parenchyme du mésophylle.

Poils. — On observe de la nicotine dans les cellules qui constituent les articles inférieurs de ces organes, rarement dans leurs cellules terminales, jamais dans la tête des poils glanduleux.

Racine. — La nicotine s'observe dans l'écorce, dans le parenchyme libérien et la partie périphérique des rayons médullaires ainsi que dans les jeunes éléments du liège.

Appareil reproducteur. — Toutes les cellules parenchymateuses des organes floraux renferment de la nicotine; il y a accumulation de cette base dans les épidermes. Toutefois, dans l'ovaire, c'est le tissu très lacuneux des placentas qui paraît en contenir le plus.

Le tégument externe des ovules et les cellules qui entourent le sac embryonnaire renferment assez bien d'alcaloïde, mais la nicotine disparaît peu à peu de l'assise nourricière, et le tégument externe, désorganisé dans la graine mûre, n'en contient plus que des quantités très faibles, enclavées dans quelques débris protoplasmiques provenant de cette couche et demeurés adhérents à la graine.

10. Petunia violacea.

A. Historique. — Nous n'avons trouvé dans la littérature aucune communication relative aux alcaloïdes de cette plante.

B. Action des réactifs. — Ceux des réactifs généraux qui donnent les meilleurs résultats quand on les fait agir sur les tissus de ce végétal, sont :

1° L'iodure de potassium iodé, qui donne un précipité brun à reflet bleuâtre, qui pâlit et disparaît vite;

2° L'acide phosphomolybdique, avec lequel il se forme un précipité jaune;

3° L'acide picrique, dont l'action est assez analogue au réactif précédent;

4° Le chlorure d'or, qui provoque la formation d'un précipité jaune sale rapidement réduit.

C. Localisation. *Tige.* — L'alcaloïde s'y localise dans l'épiderme, l'endoderme, les stéréides, que l'on ne rencontre ici que dans la couche péricyclique, le parenchyme libérien et le parenchyme médullaire avoisinant le liber interne.

Feuilles. — On y rencontre l'alcaloïde en quantité assez considérable dans les épidermes; il en existe aussi, quoique très peu, dans les cellules en palissade.

Dans le pétiole des feuilles, les faisceaux appartiennent au type concentrique amphicribral, anomalie qui s'explique facilement par la jonction des deux libers normaux. L'alcaloïde s'accumule dans les cellules disposées autour de ces faisceaux.

Poils. — Il y a un peu d'alcaloïde dans les articles voisins de l'épiderme. Les poils glanduleux n'en renferment pas.

Racine. — L'alcaloïde s'y localise comme dans le même organe de *Nicotiana Tabacum.*

Appareil reproducteur. — Les ébauches florales renferment peu d'alcaloïde. Dans les sépales et les pétales adultes, il est localisé comme dans les feuilles. Il disparaît assez vite de la corolle.

Les étamines en contiennent autour du faisceau et dans l'assise nourricière du pollen; le style, autour de ses deux faisceaux; le péricarpe, dans l'épiderme et dans la couche cellulaire qui tapisse la cavité ovarienne.

Il y a beaucoup d'alcaloïde dans le tégument externe de l'ovule, moins dans l'assise nourricière de l'albumen.

Cet alcaloïde réagit comme la nicotine avec l'acide sulfurique et avec le mélange d'acide chlorhydrique et d'acide azotique.

11. Salpiglossis sinuata.

A. Historique. — Cette plante n'a pas encore été signalée comme renfermant un alcaloïde.

B. Action des réactifs. — L'iodure de potassium iodé donne un précipité brun-kermès assez persistant; le chlorure d'or, un précipité jaunâtre, et l'iodure double de mercure et de potassium, un précipité jaune brun. Traitées d'abord par l'acide tartrique, les coupes à étudier se comportent tout autrement; plus aucune précipitation ne se produit quand on fait agir les réactifs généraux des alcaloïdes.

C. Localisation. *Tige.* — Il n'y a que fort peu d'alcaloïde dans l'épiderme jeune, et plus du tout dans l'épiderme adulte. Les cellules palissadiformes sous-jacentes n'en contiennent pas non plus, mais il est fort abondant auprès des libers.

Feuilles. — Ces organes renferment un peu d'alcaloïde dans les épidermes et auprès des faisceaux.

Poils. — Ils ne contiennent pas d'alcaloïde.

Racines. — Nous avons obtenu les réactions mentionnées plus haut dans le parenchyme cortical et dans la région externe des rayons médullaires.

Appareil reproducteur. — Il se trouve beaucoup d'alcaloïde dans le péricarpe. Les ovules en renferment surtout dans leur tégument externe. Dans l'assise nourricière, il ne tarde pas à disparaître et il n'y en a plus dans la graine, car il ne reste du tégument externe que les parois inférieures et épaissies de ces cellules.

L'embryon n'est pas faiblement courbé, contrairement à ce que dit Wettstein, mais enroulé en hélice. Il se distingue de ceux des végétaux précédents par sa coloration violette, due à des grains d'aleurone colorés contenus dans les cellules épidermiques. Ce n'est qu'après la germination que la matière colorante violette apparaît chez les autres types étudiés, mais à l'égard des alcaloïdes cet embryon ne se comporte pas différemment des autres : les réactifs n'y indiquent la présence d'aucune base végétale.

12. Brunfelsia americana.

A. Historique. — Aucun alcaloïde n'a encore été signalé dans ce végétal.

B. ACTION DES RÉACTIFS. — L'iodure de potassium iodé donne un précipité brun à reflet bleuâtre; l'acide phosphomolybdique, un précipité jaune, et le chlorure d'or, un précipité jaune pâle.

C. LOCALISATION. *Tige.* — A quelque distance du point végétatif (où l'alcaloïde se répartit comme dans tous les végétaux étudiés), on observe que la base est très abondante dans les cellules épidermiques ou dans le phellogène et les éléments non encore subérifiés qui en dérivent, de même que dans les éléments collenchymateux sous-jacents.

Les deux ou trois couches les plus internes de l'écorce, les éléments parenchymateux du péricycle, les stéréides voisines et les rayons médullaires en contiennent aussi des quantités considérables. De même que dans *Petunia violacea,* il n'y a pas de stéréides auprès des libers, mais dans la moelle on observe des îlots de cellules pierreuses qui ne contiennent pas d'alcaloïde, tandis que le suc cellulaire de toutes les autres en renferme notablement.

Dans le parenchyme cortical, on rencontre aussi, quoique plus rarement, des cellules semblables toujours dépourvues d'alcaloïde.

Feuilles. — Les feuilles de ce végétal sont assez épaisses et l'épiderme en est fortement cutinisé. Nous n'y avons observé d'alcaloïde qu'au voisinage des faisceaux, mais surtout auprès du liber interne et dans les rayons médullaires.

N'ayant pu disposer que d'un rameau de ce végétal, nous n'avons pu localiser l'alcaloïde dans sa racine ni dans son appareil reproducteur, mais il est certain qu'au point de vue de la richesse en base végétale, il peut être comparé à la Belladone et à la Stramoine.

LES ALCALOÏDES PENDANT LA GERMINATION.

Nous avons étudié pendant qu'elles germaient des graines d'*Atropa Belladona* et de *Datura Stramonium*, et les phénomènes observés ont été absolument concordants.

Nous avons déjà fait remarquer que ces graines ne renferment d'alcaloïde ni dans l'albumen ni dans l'embryon, mais seulement dans les tissus morts écrasés entre l'albumen et le testa.

L'alcaloïde apparaît dans la plantule quand les cellules des méristèmes recommencent à se cloisonner, et il se répartit, comme dans la plante même, dans les points végétatifs, dans l'épiderme et auprès des faisceaux en voie de différenciation de l'hypocotyle et des cotylédons.

Y aurait-il absorption de l'alcaloïde des téguments ?

L'examen de la graine dont l'albumen s'est protégé extérieurement par d'épaisses membranes, rend déjà cette hypothèse assez peu vraisemblable.

Mais avec des graines volumineuses, on peut même, comme l'a fait Clautriau (*loc. cit.*), exclure complètement l'hypothèse de l'utilisation possible des alcaloïdes des téguments par la plantule en faisant germer des graines pelées et soumises à des lavages répétés dans l'eau distillée.

Chez ces dernières, l'alcaloïde naît et se répartit comme chez les autres, d'où il résulte qu'il se forme pendant la germination aux dépens des réserves accumulées dans la graine.

TOPOGRAPHIE GÉNÉRALE DES ALCALOÏDES CHEZ LES SOLANACÉES.

En général, chez les Solanacées, nous avons décelé des alcaloïdes dans tous les points végétatifs aériens. Les réactions indiquent, par leur intensité, des quantités de base augmentant d'abord, à mesure qu'on s'éloigne des cellules initiales, et atteignant un maximum de concentration à une assez faible distance du sommet.

La différenciation des tissus de la tige est accompagnée de la localisation de l'alcaloïde suivant trois surfaces concentriques dont la plus extérieure comprend l'épiderme et les deux autres constituent une double gaine qui limite de part et d'autre l'anneau fibro-vasculaire. Cette localisation toutefois n'est pas absolue, et l'on passe par une transition insensible des régions où l'alcaloïde est accumulé à celles qui en sont totalement dépourvues.

Souvent aussi (*Solanum Dulcamara* fait exception) l'alcaloïde disparaît de ses divers sièges à une distance plus ou moins grande des points végétatifs. Il ne se maintient dans la zone périphérique que grâce au liège, le phellogène ayant, comme l'épiderme, la faculté d'accumuler l'alcaloïde.

C'est encore dans l'épiderme et non loin des tubes criblés que les alcaloïdes se localisent dans les feuilles.

A l'autre pôle du végétal, les alcaloïdes abondent dans la coiffe et à une faible distance des cellules initiales dans l'assise pilifère et les rangées externes du périblème.

Quand la racine est devenue adulte, c'est dans le parenchyme de l'écorce et les jeunes éléments du périderme que l'on retrouve les alcaloïdes.

Les organes floraux se comportent comme les feuilles végétatives au point de vue de la topographie des alcaloïdes, mais les carpelles et les ovules les accumulent souvent davantage et en conservent pendant toute l'évolution du fruit. La maturation est accompagnée d'une perte partielle de l'alcaloïde contenu dans le péricarpe et dans la graine.

Parmi les graines mûres, il y en a qui contiennent une certaine quantité d'alcaloïde dans leurs téguments; l'albumen et l'embryon n'en renferment à aucune phase de leur développement.

CONCLUSIONS.

1. Les divers alcaloïdes des Solanacées se localisent sensiblement de la même manière dans les espèces qui les élaborent : ils se conduisent comme s'ils étaient des équivalents physiologiques.

2. La solanine se localise comme un véritable alcaloïde.

3. Les alcaloïdes et le tanin coexistent assez souvent dans le suc

cellulaire des Solanacées, à cause de la solubilité de leurs combinaisons en milieu acide.

4. En présence des tanins, certaines réactions de la solanine sont sensiblement modifiées.

5. Éliminés complètement de l'ovule avant la maturation de la graine ou relégués dans ses téguments, les alcaloïdes ne font jamais partie des réserves de la graine des Solanacées, et ils n'apparaissent dans l'embryon que lors de l'utilisation de ces réserves.

6. Ils figurent toujours à côté des réserves hydrocarbonées des racines charnues et des tubercules, mais ils augmentent en quantité lorsque ces réserves sont utilisées à la production de nouveaux tissus.

7. Ils ne se disposent pas de même auprès de tous les méristèmes, car tandis qu'ils abondent dans les points végétatifs qui donnent naissance aux membres exogènes ou endogènes, de même que dans le phellogène, on ne les rencontre qu'à une certaine distance du cambium et de la plantule en voie de développement dans le sac embryonnaire.

8. La situation superficielle qu'ils occupent leur permet de protéger contre les animaux herbivores les organes les plus délicats et les plus importants de la plante, et à ce point de vue leur présence constante dans le liège au moyen duquel elle cicatrise ses blessures mérite d'être remarquée.

9. En somme, nos observations viennent corroborer les idées émises par M. L. Errera relativement à la topographie des alcaloïdes et à leur rôle physiologique.

C'est d'ailleurs aux lumières de ce maître dévoué que nous devons d'avoir pu mener à bien notre modeste travail, et nous aimons à le remercier de nouveau ici de son accueil toujours bienveillant et de ses judicieux conseils.

EXPLICATION DES FIGURES

Dans toutes ces figures, la coloration brun rouge indique la présence d'un alcaloïde ou d'un glycoside.

FIG. 1. Segment de la coupe transversale d'une tige de *Solanum tuberosum* : *ep*, épiderme; *pa*, poil articulé; *pg*, poil glanduleux; *c*, collenchyme; *pc*, parenchyme cortical; *co*, cellules à oxalate de calcium; *end*, endoderme; *s*, stéréides; *le*, liber externe; *li*, liber interne; *v*, vaisseaux.

— 2. Schéma de la course des faisceaux dans la même tige.

— 3. Coupe tangentielle de la même tige au niveau du liber externe : *al*, anastomose libérienne; *tc*, tube criblé; *ca*, cellule annexe.

— 4. Coupe tangentielle de la tige de *Datura Stramonium*, pratiquée au même endroit.

— 5. Coupe transversale du tubercule de la Pomme de terre : *ph*, liège; *le*, liber externe; *x*, xylène; *li*, liber interne.

— 6. Coupe de la graine suivant le plan de ses deux plus grands diamètres : *al*, albumen; *an*, éléments écrasés de l'assise nourricière de l'albumen; *te*, tégument externe.

— 7. Trois cellules épidermiques d'*Atropa Belladona* sur lesquelles agit l'iodure de potassium iodé : *sc*, sphérules déjà colorées par le réactif; *si*, sphérules encore incolores.

— 8. Action de l'iodure de potassium iodé : *a*, sur un mélange de solanine et de solanidine; *b*, *c*, *d*, sur des cellules épidermiques de jeunes tiges de *Solanum tuberosum; b*, première phase, précipité formé à l'arrivée du réactif; *c*, deuxième coloration uniforme; *d*, troisième phase, la masse précipitée se plisse et modifie sa forme.

FIG. 9. Partie de la coupe transversale de la racine d'*Atropa Belladona* : x_2, xylène secondaire; l_2, liber intraxylaire; p_2, parenchyme ligneux secondaire.

— 10. Coupe tangentielle de la tige de *Scopolia japonica* pratiquée dans la région péricyclique : *s*, stéréides; *end*, endoderme; *p*, cellules péricycliques.

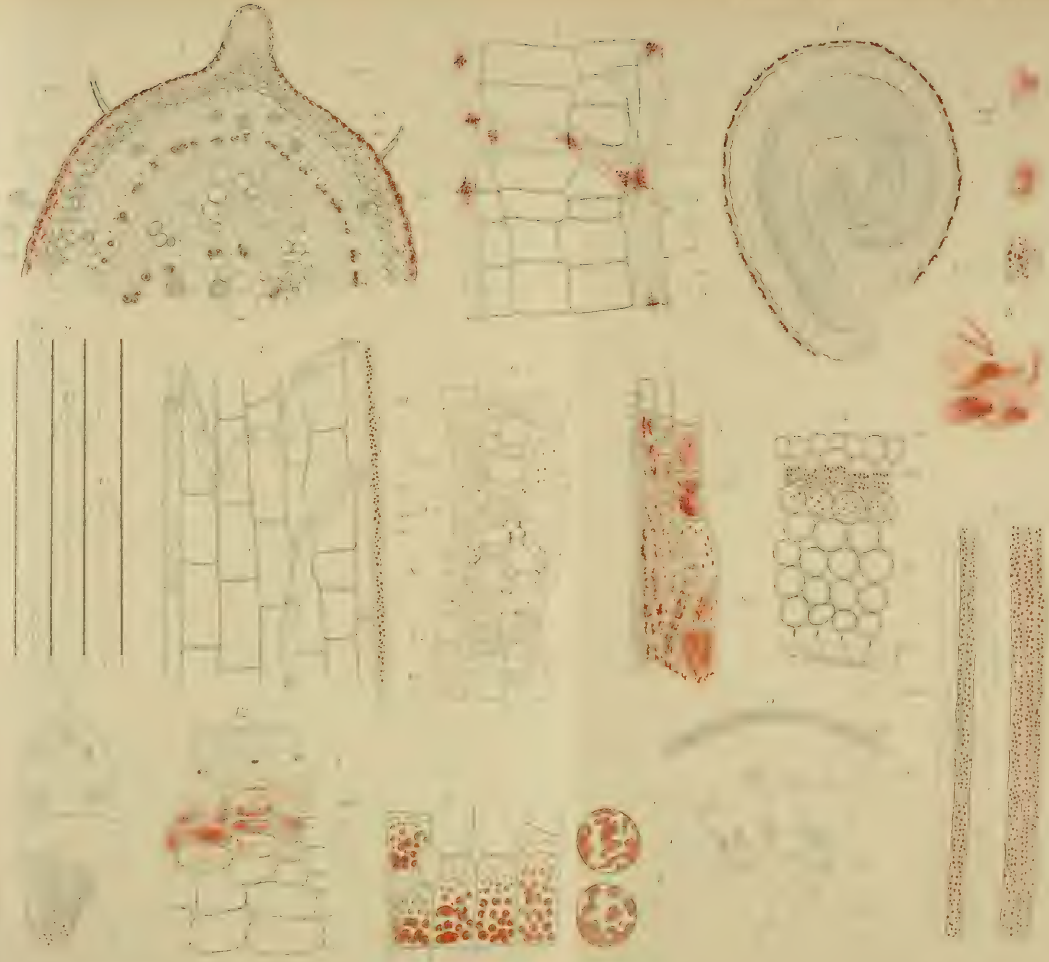
— 11. Coupe longitudinale d'une jeune racine de *Solanum tuberosum* à l'endroit où une radicelle prend naissance : *p*, cellules péricycliques; *end*, cellules endodermiques; *pc*, cellules du parenchyme cortical.

— 12. Partie périphérique de la coupe transversale d'un tubercule de Pomme de terre : *g*, granules situés dans des cellules mortes et renfermant de la solanine; *phi*, cellules les plus internes du liège; *pc*, cellules les plus internes du parenchyme cortical.

— 13. Coupe tangentielle au travers de l'écorce de *Solanum Dulcamara* sur laquelle a agi l'iodure de potassium iodé : *b*, deux protoplastes isolés traités par le même réactif.

— 14. Portion d'une coupe transversale de la racine de *Solanum Dulcamara* : *ap*, reste de l'assise pilifère; *phg*, phellogène; *pc*, parenchyme cortical; *end*, endoderme; *p*, péricycle; *l*, liber.

p
ep
pg
f
end
Fa
Fi



Ph. v. Mölle ad nat. del. [illegible] [illegible] Lith.

PRÉSENCE ET LOCALISATION

D'UN

ALCALOÏDE DANS QUELQUES ORCHIDÉES

PAR

E. DE WILDEMAN (¹) (²)

Au mois de décembre dernier, en faisant agir une solution d'iodure de potassium iodé sur des coupes de racines aériennes d'Orchidées, j'ai observé dans les cellules un précipité rappelant ceux que l'on obtient avec les alcaloïdes. Deux espèces du genre *Dendrobium*, le *Dendrobium nobile* et le *Dendrobium Ainsworthii*, ont présenté dans toutes les parties de la plante, depuis les racines aériennes jusqu'aux fleurs, cette même réaction. Chez les *Phalaenopsis Luddemanniana*, le même précipité se forme dans les cellules de la racine.

C'est par la voie microchimique que je me suis tout d'abord assuré de la présence d'un alcaloïde. Pour cette recherche, je me suis surtout basé sur la propriété que possèdent les alcaloïdes, d'être enlevés des tissus qui les contiennent par l' « alcool tartrique ». M. Errera a prouvé par ses recherches sur la distinction microchimique des

---

(¹) Ce travail a été publié dans le *Bulletin de la Société belge de microscopie*, t. XVIII, p. 101, 1892.

(²) M. G. Clautriau a bien voulu se charger de la partie macrochimique de cette étude.

alcaloïdes et des matières protéiques (¹), que ces dernières (qui peuvent présenter des réactions communes avec les premiers) sont insolubles dans l'alcool tartrique. Elles donnent par conséquent, même après un séjour prolongé dans cette solution, les mêmes réactions qu'avant leur immersion dans ce liquide.

Une difficulté se présentait cependant, à première vue, dans l'application de cette méthode aux Orchidées. Dans ces derniers temps, MM. Molisch, Mikosch, Chmielewsky (²) ont décrit des corps cristallins que l'on rencontre dans certaines cellules végétales, et qui présentent les réactions des substances protéiques. C'est dans l'*Epiphyllum truncatum* (Cactées) que ces cristalloïdes ont été d'abord découverts par Molisch; ils ont été ensuite trouvés dans l'épiderme des feuilles d'*Oncidium* (Orchidées).

Ces cristalloïdes sont solubles dans l'alcool d'après Molisch, solubles en partie d'après Mikosch, insolubles d'après Chmielewsky. Plus récemment encore, Wakker (³) a décrit un corps également insoluble dans l'alcool et qui a beaucoup d'analogie avec les cristalloïdes des *Epiphyllum*.

La question qui se posait donc était de savoir si ces corps sont réellement solubles, si le procédé microchimique proposé par M. Errera était ici en défaut. Quelques réactions que j'ai pu faire sur l'épiderme de la tige de l'*Epiphyllum* m'ont convaincu de l'insolubilité de ces cristalloïdes dans l'alcool. Si les auteurs ont cru

---

(¹) L. ERRERA, *Sur la distinction microchimique des alcaloïdes et des matières protéiques.* (ANN. DE LA SOC. BELGE DE MICROSC., 1889, t. XIII.)

(²) MOLISCH, *Ueber merkwürdig geformte Proteinkörper in den Zweigen von Epiphyllum.* (BER. D. DEUTSCH. BOT. GES., 1885, Heft 6.)

MIKOSCH, *Ueber ein neues Vorkommen geformten Eiweisses.* (BER. D. DEUTSCH. BOT. GES., 1890, Bd VIII, p. 33.)

CHMIELEWSKY, *Eine Bemerkung über die von Molisch beschriebenen Proteinkörper in den Zweigen von Epiphyllum.* (BOT. CENTRALBLATT, 1887, II.)

(³) WAKKER, *Ein neuer Inhaltskörper der Pflanzenzelle.* (PRINGSHEIM JAHRB., Bd XXIII, 1891, p. 1.)

Voyez aussi R. E. FRY, *Aggregations of Proteid in the cells of Euphorbia splendens.* (ANN. OF BOT., vol. V, nº XX, 1891.)

les voir disparaître, c'est que l'observation n'a pas été suivie assez minutieusement. Le corps protéique primitivement massif, et qui présente une belle coloration par le réactif de Millon, change de forme au bout de quelque temps lorsqu'on plonge l'épiderme ou la tige complète dans l'alcool. Il devient fibrillaire, et se présente sous l'aspect d'une botte de fibrilles très ténues, qui se colorent encore nettement par le réactif de Millon. Si l'on observe un fragment d'épiderme déposé vivant dans le réactif de Millon, on peut voir des transformations très diverses de la masse qui, de fusiforme qu'elle était d'abord, devient sphéroïdale et finit par disparaître. Ces cristalloïdes ne font donc pas exception, et nous pouvons invoquer la solubilité dans l'alcool comme un caractère distinctif des sels d'alcaloïdes.

Les réactifs que j'ai employés pour caractériser l'alcaloïde sont les suivants : l'iodure de potassium iodé, l'iodure de potassium iodé additionné de carbonate d'ammoniaque (Clautriau), l'acide phosphomolybdique, l'iodure de bismuth et de potassium, l'acide sulfurique, le réactif de Fröhde. Le premier de ces réactifs est le plus sensible ; les deux premiers donnent en présence de l'alcaloïde un précipité brun-acajou très prononcé. L'acide phosphomolybdique fournit un précipité jaunâtre moins abondant ; il se forme mieux lorsqu'on ajoute un peu d'acide nitrique. De même pour l'iodure double de mercure, auquel il faut ajouter de l'acide chlorhydrique. Le réactif de Fröhde est très variable dans ses effets. En général, il communique aux cellules qui renferment beaucoup d'alcaloïde une coloration jaune verdâtre. L'acide sulfurique donne également une teinte jaunâtre à la vacuole des cellules qui renferment de l'alcaloïde, mais cette réaction est souvent difficile à obtenir d'une façon nette.

Afin de vérifier la présence d'un alcaloïde, M. G. Clautriau l'a recherché dans les tissus de *Dendrobium*, par la voie macrochimique.

Voici les résultats qu'il m'a communiqués.

Trois tiges fraîches de *Dendrobium nobile* pesant ensemble 54^{gr}82 représentant 6^{gr}81 de matière sèche, ont été traitées d'après la méthode de Stas. La solution éthérée a laissé à l'évaporation un faible résidu, légèrement jaunâtre, présentant les réactions des alcaloïdes. Ce résidu, placé quelques jours dans un exsiccateur, n'a pas présenté de traces de cristallisation. Il s'est ensuite facilement dissous dans l'eau distillée et dans l'eau acidulée par l'acide chlorhydrique, donnant une solution qui, évaporée lentement, a abandonné un résidu renfermant de fines aiguilles cristallines. En ajoutant à cette solution chlorhydrique de la baryte caustique, puis de l'acide sulfurique jusqu'à réaction nettement acide, et neutralisant la liqueur par du carbonate de baryum, on a obtenu une solution sulfurique de l'alcaloïde. Celle-ci, évaporée lentement à siccité en présence de carbonate de baryum, a fourni un résidu qui a été épuisé par l'alcool absolu à plusieurs reprises, et l'évaporation de cet alcool n'a laissé que des cristaux de sulfate de l'alcaloïde.

Ce sont ces cristaux dissous dans l'eau distillée qui ont servi aux réactions suivantes, permettant d'affirmer que le *Dendrobium nobile* renferme un alcaloïde.

La solution aqueuse précipite en brun-kermès par l'iodure de potassium iodé, et par ce même réactif contenant du carbonate d'ammoniaque.

L'iodure double de mercure et de potassium donne un précipité blanc jaunâtre.

L'iodure double de cadmium et de potassium ainsi que l'iodure double de bismuth et de potassium précipitent, le premier en blanc légèrement jaunâtre, et le second en rouge-orange.

L'acide phosphomolybdique forme un précipité blanc jaunâtre.

L'acide picrique précipite en jaune.

Le chlorure d'or donne un précipité blanc jaunâtre.

Il ne s'est pas produit de précipité avec les réactifs suivants : tanin, chlorure de platine, chlorure de palladium, chlorure d'iridium, bichromate de potassium et bichlorure de mercure.

Le réactif de Fröhde donne une coloration verte intense, peu persistante.

L'acide sulfurique, en très faible quantité et à une légère chaleur, produit une coloration rose violacé.

Il ne s'est produit aucune réaction caractéristique par l'acide chlorhydrique, l'acide azotique ordinaire et l'acide azotique fumant, de même que par le réactif d'Erdmann et les solutions sulfuriques d'acide titanique, d'acide vanadique, d'acide sélénieux, de sulfate de cérium et de bichromate de potassium.

C'est, à ma connaissance, la première fois que l'on signale un alcaloïde dans cette famille. Il est fort probable que des recherches entreprises actuellement fourniront l'occasion d'étudier à ce point de vue les différents genres de ce groupe intéressant.

Voici les localisations que j'ai pu obtenir par la voie microchimique dans les différentes parties du *Dendrobium nobile*.

Racines aériennes. — Dans une coupe longitudinale de racine aérienne, comprenant le point végétatif, on observe à la partie externe et vers la pointe, des cellules petites, à protoplasme compact, qui deviendront les cellules du voile. Sous cette assise, nous trouvons une zone de cellules à parois plus résistantes, qui forme une gaine de protection; puis une zone parenchymateuse. Plus vers le centre, une nouvelle couche de cellules à membranes épaissies, et enfin, à l'intérieur de cette gaine, le faisceau central de la racine. Ce faisceau est formé de plusieurs lames ligneuses ayant entre elles de petits massifs libériens. Vers le sommet végétatif, toutes les cellules présentent une réaction très évidente d'alcaloïde; les cellules jeunes du voile en contiennent également dans une forte proportion (1). En remontant le long de la racine, vers les parties adultes, on voit le précipité diminuer dans les cellules du voile jusqu'à ce que, dans les cellules qui ont acquis leur développement complet, on ne trouve plus qu'une coloration jaune du protoplasme. Dans ces mêmes cellules, dont la paroi s'est considérablement épaissie, on observe souvent une coloration rouge brun assez foncé, qui siége dans la membrane et non dans le contenu cellulaire. Elle ne peut être rapportée à la présence d'un alcaloïde, car elle persiste encore après l'action de l'alcool tartrique.

---

(1) Le point végétatif et surtout la coiffe des jeunes racines de *Colchicum autumnale* donnent également une réaction très nette de colchicine. (L. Errera, *observ. inéd.*)

Dans la première des gaines, de même que dans celle qui entoure immédiatement le faisceau, on ne trouve, à l'état adulte, pas de trace de précipité. Mais ici également, comme pour les cellules du faisceau, nous voyons les membranes prendre une coloration rouge brun très marquée, et trancher ainsi nettement sur le reste du tissu.

Les couches intermédiaires entre les deux gaines sont les seules qui présentent une réaction bien nette d'alcaloïde; presque toutes les cellules du parenchyme en renferment.

Il n'est pas impossible que dans la région libérienne il existe quelques cellules qui contiennent de l'alcaloïde, mais les tubes criblés et leurs cellules annexes sont très petits et leur contenu est très difficile à observer.

Si nous faisons une coupe transversale assez en arrière de la pointe de la racine, pour que le voile soit complètement développé, nous la trouvons formée par cinq cylindres principaux emboîtés les uns dans les autres (1). Le premier en partant du centre est formé par le faisceau et la moelle; le second, par une gaine que nous avons vue formée de cellules à membranes fortement épaissies; il est interrompu de distance en distance. Le troisième cylindre est constitué par des cellules lâchement réunies et renfermant des granulations chlorophylliennes. Un quatrième cylindre, à cellules également épaissies, se trouve aussi interrompu de distance en distance par des cellules spéciales qui mettent la zone parenchymateuse en contact avec le voile. Enfin nous trouvons extérieurement le voile.

C'est dans la troisième zone seule que, sur une coupe transversale, on peut déceler la présence d'un alcaloïde. On ne peut naturellement pas en observer dans le liber, car les cellules longues de ce tissu ont été infailliblement entamées par le rasoir, et leur contenu enlevé par le lavage à l'eau que l'on doit toujours faire subir aux coupes afin d'obtenir une réaction nette.

---

(1) Voyez la figure in STRASBURGER, *Das Botanische Practicum*, 2e édit., p. 191.

TIGE. — Dans la coupe transversale de tige adulte, nous trouvons à l'extérieur un épiderme composé de cellules petites, à paroi externe fortement cuticularisée et colorée en brun. Vers le centre, des faisceaux épars dans un parenchyme à cellules assez grandes. L'alcaloïde se localise dans les cellules du parenchyme, surtout dans celles qui entourent les faisceaux. Mais cette localisation ne doit pas nous induire en erreur, car si l'on fait une coupe longitudinale, on voit que l'alcaloïde ne se trouve pas spécialement dans les environs du faisceau, mais que cette localisation est due au fait que ces cellules sont en général de beaucoup plus petite taille que leurs voisines. Elles ont par conséquent beaucoup moins de chances d'être entamées par le rasoir, et de perdre ainsi leur contenu. En faisant une coupe tangentielle, on trouve les cellules à alcaloïde disposées dans le tissu à la façon des vaisseaux laticifères articulés.

Dans le parenchyme se trouvent certaines cellules spéciales, de même grandeur environ que leurs voisines, mais qui s'en distinguent par la présence de paquets de raphides. Ces derniers sont entourés d'une matière mucilagineuse. Les réactifs cités plus haut ne m'ont rien fourni lorsque je les ai fait agir sur ces cellules, du moins dans la tige.

Le parenchyme contient des grains d'amidon et de la chlorophylle, et cela même dans les cellules qui renferment l'alcaloïde.

FEUILLE. — Chez cette espèce de *Dendrobium*, la feuille est engainante à la base. Les tissus qui composent cette gaine renferment de l'alcaloïde, mais comme à l'état adulte de la feuille ces tissus sont peu vivants, la quantité d'alcaloïde qu'on y trouve est très minime.

Dans le limbe, la quantité d'alcaloïde est très variable suivant l'âge de la feuille que l'on considère.

La couche épidermique inférieure et la supérieure, constituées par des cellules polygonales, d'aspect à peu près identique, donnent une réaction assez abondante. On peut y voir, surtout par l'iodure de potassium iodé, le précipité localisé très nettement dans la vacuole contractée. Dans le parenchyme chlorophyllien qui se trouve logé entre les deux épidermes, on trouve des cellules dont les unes donnent un précipité et les autres pas. Le parenchyme en palissade fait complètement défaut dans cette Orchidée : tout le tissu est composé de cellules arrondies. Lorsque le précipité se présente assez abondamment, on voit la couche qu'il forme sur la paroi interne du sac protoplasmique interrompue aux endroits où se trouvent des grains de chlorophylle. M. Errera a observé le même fait dans les Lupins (¹).

Dans le parenchyme foliaire, on rencontre, disposées dans le sens longitudinal de la feuille, de grandes cellules à raphides. Elles ont souvent plus de dix fois la longueur des cellules du parenchyme ordinaire, et contiennent un mucilage qui prend par l'iodure de potassium une coloration brun rouge. On pourrait peut-être supposer que cette coloration est due à une autre substance, car les autres réactifs n'ont fourni aucun résultat, mais elle ne se produit plus après que l'on a fait agir de l'alcool tartrique. Toutes les cellules à raphides que l'on rencontre dans une coupe ne se colorent cependant pas. Dans des cellules analogues du *Narcissus*, M. Errera a cependant trouvé un précipité très net.

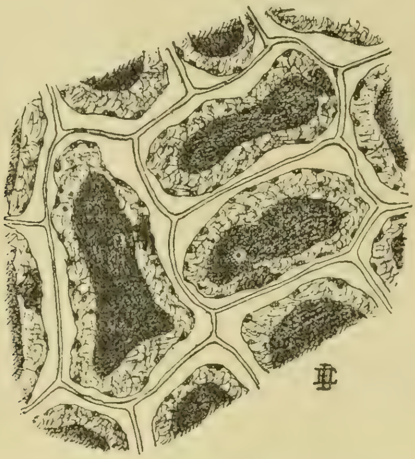
Fleur. — Le tissu du pédoncule présente aussi des réactions d'alcaloïde. L'épiderme, formé de cellules allongées, montre une réaction nette et en général assez abondante; le parenchyme sous-épidermique en renferme également, quoique en quantité moindre. Quant au faisceau, il est très difficile de s'assurer s'il contient oui ou non de l'alcaloïde.

Dans la fleur, les deux épidermes et le tissu intermédiaire offrent dans leurs cellules un précipité très net par l'iodure de potassium iodé. C'est peut-être dans les fleurs qu'il se rencontre le plus abon-

---

(¹) L. Errera, *loc. cit.* (Ann. de la Soc. belge de microsc., t. XIII, p. 114.)

damment. Presque toutes les cellules des pétales possèdent de l'alcaloïde. On peut voir très nettement la localisation du précipité dans la vacuole centrale plasmolysée, comme le montre le croquis ci-joint.



Fragment de l'épiderme supérieur d'un pétale de *Dendrobium nobile*, traité par l'iodure de potassium iodé.

Ceci confirme les observations de M. Errera (¹) sur la localisation des alcaloïdes dans le suc cellulaire des cellules vivantes. Dans les poils pluricellulaires qui couvrent le labelle à sa face inférieure, l'iodure de potassium iodé décèle également la présence d'un alcaloïde. Ces poils, de même que les cellules des pétales, contiennent du suc cellulaire coloré en rouge, qui n'empêche pas la réaction de se produire.

OVAIRE ET POLLINIES. — Dans tous les tissus de l'ovaire, depuis son épiderme, l'alcaloïde se présente en assez grande quantité. Des réactions nettes n'ont pas été obtenues dans les cellules mères des grains de pollen, ni dans ceux-ci.

(¹) L. ERRERA, *loc. cit.*, p. 83.

Dans le *Dendrobium Ainsworthii*, j'ai observé les mêmes localisations dans les feuilles et dans la fleur, que j'ai seules pu étudier. Dans le *Phalaenopsis*, je n'ai pu étudier que quelques fragments de racines aériennes.

Les observations que j'ai exposées plus haut, relativement à la localisation de l'alcaloïde, confirment dans leur ensemble les résultats qui ont été obtenus par MM. Errera, Clautriau et Maistriau (1), dans un premier travail sur la localisation des alcaloïdes.

Nous avons en effet trouvé l'alcaloïde surtout abondant dans les tissus jeunes, dans les cellules en voie active de division du point végétatif de la tige, des feuilles et des racines, dans l'épiderme et les poils. Il paraît aussi se localiser, dans certains cas, dans les cellules à raphides.

Bruxelles, Institut botanique. Mars 1892.

---

(1) *Premières recherches sur la localisation et la signification des alcaloïdes.* (Ann. de la Soc. belge de microsc., t. XII.)

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE

DE LA

LOCALISATION MICROCHIMIQUE DES ALCALOÏDES

DANS

LA FAMILLE DES ORCHIDACÉES

PAR

Émile DE DROOG (¹)

DOCTEUR EN SCIENCES NATURELLES

> « Le caractère essentiel de la microchimie consiste, non dans la recherche de petites quantités (des substances), mais dans leur localisation. » LÉO ERRERA.

PRÉSENCE D'ALCALOÏDE.

Par leurs fleurs aux couleurs si délicates, aux formes si gracieuses et parfois si étranges, comme aussi par leurs « bulbes », les Orchidacées ont surtout intéressé les morphologistes; certaines particularités histologiques les ont bien désignées à l'attention des anatomistes et à celle de quelques physiologistes (²), mais l'étude du

---

(¹) Ce travail a paru dans les *Mémoires couronnés et autres mémoires* publiés par l'Académie royale de Belgique, t. LV, 1896.

(²) Citons : CHATIN, *Anatomie des plantes aériennes de l'ordre des Orchidées.* (MÉM. DE LA SOC. IMP. DES SCIENCES DE CHERBOURG, 1856 et 1857.)

LEITGEB, *Die Luftwurzeln der Orchideen.* (DENKSCHRIFTEN DER K. AKADEMIE DER WISSENSCHAFTEN. Wien, vol. XXIV, 1865.)

J. COSTANTIN, *Recherches sur l'influence qu'exerce le milieu sur la structure des racines.* (ANN. DES SCIENCES NAT., 7ᵉ série, t. I, p. 135, 1885.)

E. DE JANCZEWSKI, *Organisation dorsiventrale dans les racines des Orchidées.* (ANN. DES SCIENCES NAT., 7ᵉ série, t. II, p. 55, 1885.)

M. MÖBIUS, *Ueber der anatomischen Bau der Orchideenblätter und dessen Bedeu-*

contenu cellulaire n'a guère provoqué de recherches, et ce n'est qu'en 1892 que la présence d'un alcaloïde fut signalée dans cette importante famille (¹).

Le groupe des Orchidacées comprend plus de 5,000 espèces, réparties dans toutes les contrées chaudes et tempérées du globe, et nous avons cru qu'il ne serait pas sans intérêt : 1° de rechercher quelles sont, dans cette nombreuse famille, les espèces alcaloïdifères, et 2° de voir comment, dans les divers tissus de celles-ci, se distribue le principe actif qu'elles élaborent.

Ce dernier point de vue nous conduit à l'étude microchimique comparée des Orchidacées, et il importe dès lors, pour se faire une idée plus exacte de la topographie générale des alcaloïdes que l'on pourrait découvrir, de rapporter les résultats acquis à l'anatomie comparée de la famille. Vu les affinités histologiques profondes qui existent entre les Orchidacées, nous nous bornerons à exposer l'anatomie de *Dendrobium nobile,* où une base végétale fut d'abord observée, et nous consignerons, en l'occurrence, les particularités de structure que pourraient présenter certaines espèces.

Anatomie de *Dendrobium nobile.*

A. *Tige.* — Si nous pratiquons une coupe transversale dans un entre-nœud d'une tige adulte, nous remarquons que celle-ci est constituée, en allant de la périphérie vers le centre de l'organe, comme suit :

1° Un épiderme (fig. 1, *ep.*) formé par une seule assise de petites

---

tung für das System dieser Familie. (Jahrb. f. wiss. Botanik, vol. XVIII, p. 530, 1887.)

Groom, *The velamen of Orchids.* (Ann. of Bot. Londres, 1893.)

Mac Dougal, *Poisonous influence of various species of Cypripedium.* (Minnesota bot. Studies, 1895.)

(¹) E. De Wildeman, *Présence et localisation d'un alcaloïde dans quelques Orchidées.* (Bull. de la Soc. belge de microsc., t. XVIII, 1892.) Ce travail a été réimprimé dans ce volume du *Recueil.*

cellules, à section irrégulièrement pentagonale, intimement unies entre elles latéralement, ainsi qu'aux éléments du tissu sous-jacent avec lesquels elles alternent avec une assez grande régularité. Les parois cellulaires sont assez épaisses, ce qui semble être de règle chez les Orchidacées épidendres; les externes, arquées, sont partiellement subérisées et apparaissent comme recouvertes d'une cuticule brunâtre (*c*).

2° Une zone sclérenchymateuse (*scl*), appareil de soutien, située immédiatement sous l'épiderme et qui n'a guère, en certains endroits, plus de quatre éléments d'épaisseur. Les cellules sclérenchymateuses sont polygonales; les plus petites, à parois épaisses, alternent avec celles de l'épiderme; les autres, à mesure que l'on se rapproche de la région centrale, perdent en épaisseur, gagnent en diamètre et finissent par se confondre avec les éléments du parenchyme.

3° Un parenchyme (*pc*) lacuneux, à cellules arrondies, dont les parois sont souvent pourvues de ponctuations plus ou moins elliptiques (*cp*). Certains éléments sont remarquables par leur grande dimension et par une lignification partielle des parois (*cl*); d'autres encore renferment des raphides d'oxalate de chaux (fig. 2, *co*), réunies en bottes qu'entoure une matière mucilagineuse. Enfin, contre les faisceaux fibro-vasculaires, on observe de petits éléments (*si*) à parois très épaisses et contenant chacun une concrétion étoilée, relativement considérable et de nature siliceuse.

4° Des faisceaux fibro-vasculaires (fig. 2, *lx*) : la simple observation macroscopique de la coupe révèle leur disposition éparse et caractéristique. Sous le microscope, il n'est pas rare de voir des faisceaux soudés deux par deux, de manière à simuler le type bicollatéral des Cucurbitacées.

Les faisceaux ne présentent rien de bien particulier; citons toutefois l'arc scléreux (*cf'*) surmontant le liber (*l*) et formé d'éléments pressés les uns contre les autres, dont les plus externes ont des parois si considérables que le lumen est presque oblitéré. Dans la région du xylème (*x*), ces fibres de sclérenchyme sont, contrairement à ce que nous venons de voir, le plus souvent isolées, peu nombreuses, à parois plus minces et à lumen très grand (*cf''*). Les cellules entourant les faisceaux sont riches en amidon et constituent pour chacun d'eux une sorte de gaine amylifère.

B. *Racine* (¹). — Une coupe transversale, faite en arrière de la pointe de la racine, nous porte à considérer cinq régions bien distinctes et concentriques, ordonnées comme suit :

1° Un voile (fig. 3, *v*) formé d'un grand nombre d'assises de cellules dépourvues de tout contenu organisé, irrégulières et allongées d'une manière prépondérante dans le sens du rayon; les cellules les plus internes se distinguent par leur petitesse. Les éléments du voile présentent entre eux un certain caractère d'alternance; leurs épaississements spiralés sont tantôt dirigés tous dans le même sens, tantôt ils s'entre-croisent.

2° Un exoderme (*exd*) constitué par une seule assise cellulaire, dont les éléments sont polygonaux, allongés suivant le rayon, intimement unis entre eux ainsi qu'aux cellules du voile et aux cellules parenchymateuses avec lesquelles ils alternent. Toutes les cellules exodermiques ont les parois fortement épaissies; toutefois, on observe de distance en distance des cellules spéciales, à parois minces, dites « cellules de passage » (*cp*) (« Durchgangszellen » de Leitgeb), plus courtes que leurs voisines et mettant en communication la zone parenchymateuse et le voile. Une coupe longitudinale montre que les cellules exodermiques ordinaires sont cinq ou six fois plus longues que les éléments de passage.

3° Un parenchyme (*pa*) à cellules riches en chlorophylle, lâchement unies, arrondies ou déformées, souvent pourvues de ponctuations; les cellules externes et les internes sont les plus petites; elles alternent, celles-ci avec les éléments endodermiques, celles-là avec les cellules exodermiques; les cellules de parenchyme les plus grandes occupent la région moyenne.

4° Un endoderme (*end*) dont les caractères sont analogues à ceux de l'exoderme, mais ici les cellules de passage (*cp*) ne sont plus

---

(¹) Cf. Strasburger, *Das Botanische Practicum,* 2ᵉ édition, 1887, p. 191 fig. 83.

solidaires, elles sont associées de telle manière que l'anneau endodermique est formé de portions alternativement larges et étroites (*cp*), celles-ci opposées aux coins ligneux, celles-là aux massifs libériens.

5° Un cylindre central, dont l'axe est occupé par une moelle à cellules quelquefois ponctuées ou réticulées.

C. *Feuille.* — Nous observons sur une coupe transversale du limbe :

1° Un épiderme supérieur (fig. 4, *ep*) à cellules allongées perpendiculairement au limbe, à parois latérales d'aspect chiffonné et à parois externes revêtues d'une cuticule lisse (*c*). Cet épiderme est dépourvu de stomates, mais très caractéristique par le fait qu'en certains endroits on voit des cellules épidermiques se modifier, s'invaginer en quelque sorte, pour limiter latéralement des productions curieuses qui apparaissent comme des « poils immergés » (fig. 5, *pi*).

Ces productions furent considérées par Meyen (¹), qui, le premier, les observa chez *Pleurothallis ruscifolia*, et par Chatin (²) comme des stomates, et plus exactement, croyons-nous, par Schleiden et par Möbius (³) comme des poils profonds, analogues à ceux des Nymphéacées et du *Platycerium alcicorne.*

Dans la coupe tangentielle, ces poils présentent une section circulaire et les cellules épidermiques adjacentes, modifiées, ont des replis cuticulaires très apparents.

En coupe transversale, ces cellules affectent la forme de cônes tronqués, à base étroite renflée en tête et dirigée vers l'intérieur, et à grande base convexe et orientée vers l'extérieur; les parois sont cutinisées, sauf dans la région d'étranglement.

Nous avons rencontré ces productions sur les deux épidermes de

---

(¹) Meyen, *Neues System der Pflanzen-Physiologie*, t. I, p. 264. Berlin, 1837.

(²) Chatin, *loc. cit.*, t. V, p. 53, 1857.

(³) Möbius, *Ueber der anatomischen Bau der Orchideenblätter und dessen Bedeutung für das System dieser Familie.* (Jahrb. f. wiss. Bot., 1887.)

la feuille, et bien que généralement solitaires on observe parfois plusieurs poils associés (fig. 6).

2° Un parenchyme ou mésophylle (fig. 4, *pa*) à cellules irrégulières, laissant entre elles d'énormes méats.

De même que dans la tige, il existe dans la feuille des cellules silicifères et des cellules oxalifères; ces dernières, en coupe longitudinale, apparaissent une dizaine de fois plus longues que leurs voisines.

3° Des faisceaux fibro-vasculaires qui se présentent avec les caractères que nous leur connaissons dans la tige. Il y a toutefois lieu de remarquer que la zone de fibres sclérenchymateuses, réduite à quelques éléments dans la région xylaire de la tige, est ici très puissante et entoure complètement le bois (fig. 4, *scl*). Parmi les éléments à parois épaisses et brillantes qui séparent le liber du xylème, il en est qui présentent des ponctuations arrondies (*cp*) et dont la signification physiologique est encore mal connue.

4° Un épiderme inférieur (fig. 4, *ep'*), se différenciant par une épaisseur moindre et par une cuticule plus puissante et plus accidentée. Les stomates (fig. 7, *st*) sont nombreux et formés par deux cellules de bordure sans cellule annexe, les chambres respiratoires *chr*) sont représentées par de grands méats. Les cellules stomatiques sont surmontées de deux replis cuticulaires saillants, et souvent on voit la cuticule se prolonger sous les cellules d'une chambre respiratoire à l'autre (*c*).

LOCALISATION MICROCHIMIQUE

Actuellement on ne connaît aucune réaction propre aux bases végétales découvertes dans la famille des Orchidacées, et pour les localiser on doit s'en tenir aux réactifs généraux des alcaloïdes.

Parmi ceux-ci, le meilleur est généralement la solution aqueuse d'iodure de potassium iodé (par abréviation IKI), qui, tuant rapidement la cellule, annihile l'imperméabilité du cytoplasme, vient agir sur la vacuole et y décèle la présence d'alcaloïde par la production d'un précipité rouge brun très prononcé, dont l'aspect est si caractéristique qu'il indique, d'une manière fort probable, la présence d'alcaloïde dans un tissu où on n'en soupçonnait nullement l'existence. C'est même de la sorte que fut découvert l'alcaloïde dans *Dendrobium nobile*.

Citons aussi l'acide phosphomolybdique, auquel il convient souvent d'ajouter de l'acide azotique pour obtenir une réaction nette; l'iodure double de mercure et de potassium, additionné parfois d'acide chlorhydrique; les iodures doubles de bismuth et de potassium, de cadmium et de potassium; l'acide sulfurique seul ou avec un cristal de bichromate de potassium; le réactif de Fröhde (molybdate de soude, 1 gr.; acide sulfurique concentré, 100 gr.); le bichlorure de mercure; l'acide picrique; le tétrachlorure de platine; le tanin; l'acide osmique; le trichlorure d'or.

Dans nos recherches, nous avons suivi la marche employée dans les recherches microchimiques en général et nous avons contrôlé les résultats obtenus d'après la méthode d'Errera (¹), c'est-à-dire en nous basant sur ce fait que « l'alcool tartrique » (1 gr. acide tartrique crist. dans 20 c. c. alcool abs.) enlève des tissus les alcaloïdes qu'ils contiennent et respecte les matières protéiques incluses dans la cellule.

De plus, nous n'avons considéré que des tissus vivants, car, mortes, les cellules laissent échapper leur contenu soluble, et celui-ci, se répandant dans l'organisme par diffusion, rend toute localisation précise impossible.

C'est en opérant de la sorte, d'ailleurs, que M. E. De Wildeman (²) a décelé la présence d'alcaloïde dans : *Dendrobium nobile, D. Ainsworthii* et dans les cellules de la racine de *Phalaenopsis Luddemanniana;* de la même manière nous en avons découvert dans : *Eria stellata*, *Catasetum tabulare*, *C. Hookeri*, *C. macrocarpum*, *C. Bungerothii* et *C. discolor*.

(¹) L. Errera, *Sur la distinction microchimique des alcaloïdes et des matières protéiques*. (Mém. de la Soc. belge de microsc., 1889, t. XIII.)

(²) De Wildeman, *loc. cit.*

Liste des espèces examinées (¹).

Tribus (²).	
2. Cypripedilinae	*Cypripedilum Calceolus* L. (T. F. R.).
	— *spectabile* Sw. (T. F. R.).
	Selenipedilum caudatum Rchb. f. (F.).
3. Ophrydinae	*Orchis maculata* L. (T. F. Fl.).
4. Neottiinae	*Vanilla aromatica* Sw. (T. F.).
	Epipactis palustris Crtz. (T. F. R. Fl.).
	— *latifolia* All. (T. F.).
	Macodes Petola Bl. (F.).
	Goodyera discolor Ker. (F.).
5. Thuniinae	*Thunia alba* Rchb. f. (T. F. Fl.).
	Trichosma suavis Ldl. (T. F.).
7. Coelogyninae	*Coelogyne elegans* Ldl. (T. F. R.).
	Pleione lagenaria Ldl. (T. F. R.).
	Pholidota imbricata Ldl. (T. F. R.).
	Sturmia Wageneri Rchb. f. (T. F.).
9. Polystachyinae	*Galeandra D'Escragnoleana* Rchb. f. (T.).
	Polystachya galeata Rchb. f. (T. F. R.).
	Ansellia congoensis Rodig. (T. F.).
12. Pleurothallidinae	*Masdevallia Mooreana* Rchb. f. (T. F. Fl.).
	Stelis braccata Rchb. f. et Warscz. (T. F. Fl.).
	Restrepia antennifera H. B. K. (T. F.).
	Pleurothallis Grobyi Ldl. (T. F.).
	Octomeria diaphana Ldl. (T. F.).

(¹) Nous avons dressé cette liste d'après la classification établie par Pfitzer dans : *Die naturlichen Pflanzenfamilien,* de Engler und Pranzl. Leipzig, 1888, II. Teil, 6. Abteilung, p. 52.

Les noms des espèces alcaloïdifères et les dénominations des groupes auxquels elles appartiennent sont imprimés en caractères gras.

Les organes examinés sont représentés par les initiales : T (tige), R (racine), F (feuille), Fl (fleur), placées entre parenthèses.

(²) Tribus dont aucun représentant n'a pu être examiné : 1. *Apostasiinae,* 6. *Collabiinae,* 8. *Liparidinae,* 10. *Podochilinae,* 11. *Glomerinae,* 23. *Thelasinae,* 25. *Thecostelinae,* 26. *Steniinae,* 30. *Dichaeinae.*

Tribus.	
13. LAELIINAE	*Tetragamestus modestus* Rchb. f. (T. F. R.).
	Scaphyglottis violacea Ldl. (T. F. R.).
	Ponera modesta Rchb. f. (T. F. R.).
	Coelia macrostachya Ldl. (T. F.).
	Amblostoma tridactylum Rchb. f. (T. F.).
	= *A. cernuum* Scheidw.
	Arpophyllum spicatum Ll. et Lex. (T. F.).
	Epidendrum xanthinum Ldl. (T. F. R.).
	Cattleya Acklandiae Ldl. (T. F.).
	Laelia crispa Ldl. (T. F. R.).
	Schomburgkia rosea Lind. (T.).
	Brassavola nodosa Hook. (T. F.).
	Sophronitis cernua Ldl. (F.).
	Leptotes bicolor Ldl. (F.).
14. SOBRALIINAE	*Sobralia macrantha* Ldl. (T. F.).
15. PHAJINAE	*Phajus grandifolius* Lour. (T. F.).
	Calanthe Regnieri Rchb. f. (F.).
	Chysis Limminghei Lind. et Rchb. f. (F.).
	Bletia speciosa H. B. K. (F.).
16. CYRTOPODIINAE	*Eulophia maculata* Rchb. f. (T.).
17. **CATASETINAE**	*Mormodes Cogniauxii* L. Lind. (T. F.).
	Catasetum tabulare Ldl. (T. F.).
	— ***Hookeri*** Lind. (T. F).
	— ***macrocarpum*** Rich. (T. F.).
	Catasetum saccatum Ldl. (T. F. R.).
	Catasetum Bungerothii N. E. Br. (T. F.).
	— ***discolor*** Lind. (T. F.).
18. LYCASTINAE	*Lycaste gigantea* Ldl. (T. F.).
	Anguloa Ruckeri Ldl. (F.).
	Xylobium Hyacinthina Hort. (F.).
	Bifrenaria aureofulva Ldl. (F.).
19. GONGORINAE	*Stanhopea Wardii* Lodd. (F.).
	Gongora speciosa Ldl. (F.).
20. ZYGOPETALINAE	*Colax jugosus* Ldl. (T.).
	Zygopetalum crinitum Lodd. (T. F. R.).

Tribus.	
21. **Dendrobiinae**	*Dendrobium Dearii* Rchb. f. (T. F. R. Fl.).
	— *Brymerianum* Rchb. f. (T. F. R. Fl.).
	— *aggregatum* Roxb. (T. F.).
	— *Dalhousianum* Roxb. (T. F. R.).
	— *densiflorum* Wall. (T. F. R.).
	— *clavatum* Ldl. (T. F.).
	— *Wardianum* Warn. (T. F.).
	Dendrobium Ainsworthii T. Moore(T.F.R.Fl.).
	Dendrobium nobile Ldl. (T. F. R. Fl.).
	Dendrobium chrysotoxum Ldl. (Fl.).
	Eria stellata Ldl. (T. F. R.).
	Eria ornata Ldl. (T. F. R.).
22. Bolbophyllinae . . .	*Cirrhopetalum Thouarsii* Ldl. (T. F. R.).
	Bolbophyllum refractum Rchb. f. (T. F. R.).
	Dendrochilum glumaceum Ldl. (T. F. Fl.).
24. Cymbidiinae	*Grammatophyllum Measuresianum* Rchb. f. (T. F.).
	— *eburneum* Ldl. (T. F. R.).
	Cymbidium eburneum Ldl. (T. F.).
	Grobya galcata Ldl. (T. F.).
27. Maxillariinae	*Maxillaria leontoglossa* Rchb. f. (T. F.).
	Scuticaria Hadwenii Benth. (F.).
28. Oncidiinae	*Ada aurantiaca* Ldl. (F.).
	Rodriguezia laxiflora Ldl. (T. F. Fl.).
	= *Gomeza chrysostoma* Hoffmsgg.
	Mesospinidium vulcanicum Rchb. f. (T. F. Fl.).
	Trichopilia Galeottiana A. Rich. (F.).
	Aspasia lunata Ldl. (T. F.).
	Cochlioda rosea Benth. (F.).
	Odontoglossum pulchellum Batem. (T. F.).
	— *cirrhosum* Ldl. (T. F.).
	— *crispum* Ldl. (T. F. Fl.).
	— *triumphans* Rchb. f. (T. F.).
	Palumbina candida Rchb f. (T. F.).
	Miltonia Moreliana Warn. (F.).
	— *anceps* Ldl. (F.).
	— *spectabilis* Ldl. (F.).
	— *flavescens* Hook. (F.).
	Oncidium flexuosum Sims (F.).

Tribus.	
29. HUNTLEYINAE.	*Warscewiczella discolor* Rchb. f. (F.).
	Huntleya Meleagris Ldl. (F.).
31. **SARCANTHINAE**	***Phalaenopsis Luddemanniana*** Rchb. f. (T. R.).
	Cleisostoma crassifolium Ldl. (F.).
	Saccolabium guttatum Ldl. (F.).
	Vanda suavis Ldl. (T. F. R.).
	— *tricolor* Rchb. f. (F.) (¹).
	Angrecum superbum Thou. (F.).
	Aerides odoratum Lour. (F.).
	— *Fieldingii* F. Moore (F.).

Nous devons à l'extrême obligeance de M. Lubbers, chef de culture au Jardin botanique de l'État, à Bruxelles, et à M. Linden, directeur de l'établissement « L'horticulture internationale », à Bruxelles, d'avoir pu examiner ces Orchidacées. Nous nous faisons un plaisir d'adresser ici tous nos remerciements à ces messieurs.

(¹) Des observations communiquées à Léo Errera par M. Ph. Molle démontrent la présence d'un alcaloïde chez *Vanda tricolor*. Voici la note de M. Molle :

« Dans les premiers jours du mois de mai de 1902, je fis quelques recherches microchimiques sur les Orchidacées : elles m'amenèrent à conclure entre autres que, contrairement aux observations de M. De Droog, *Vanda tricolor* est alcaloïdifère.

» Parmi les réactifs généraux des Alcaloïdes dont j'essayai l'action sur les tissus de cette plante, c'est l'iodure de potassium iodé qui me fournit les indications les plus nettes. Il détermina dans les vacuoles de certaines cellules la formation d'un précipité brun à reflet bleuâtre, qui s'évanouissait à peine formé; mais une seconde addition de réactif ramenait le même phénomène dans les éléments où la première précipitation avait été particulièrement abondante.

» Par l'iodure double de potassium et de bismuth, les mêmes cellules se remplirent d'un précipité rouge-brique encore bien observable, quoique se détachant moins clairement du reste de la préparation.

» En faisant agir soit de l'acide phosphomolybdique, soit de l'iodure double de potassium et de mercure sur des coupes transversales non lavées des mêmes eléments, je pus très bien observer la formation de précipités d'alcaloïde en dehors des cellules : mais à l'intérieur des éléments encore intacts, l'observation de ces précipités ne fut possible qu'en suivant la diffusion des réactifs dans les tissus; même elle ne fut suffisamment nette que dans les vacuoles d'une certaine étendue.

» Il en fut de même d'autres réactifs généraux, tels que le chlorure mercurique,

ORCHIDACÉES ALCALOÏDIFÈRES.

§ 1. DENDROBIUM NOBILE.

A. *Action des réactifs.* — Les réactifs généraux qui ont servi à caractériser l'alcaloïde contenu dans les tissus de cette plante (¹), sont :

1° L'iodure de potassium iodé, qui donne un précipité brun-kermès très prononcé et persistant. Ce précipité disparaît sous l'influence de la chaleur sans toutefois réapparaître lors du refroi-

---

le chlorure de platine, etc., qui ne furent utilisés que comme moyens de contrôle.

» Quand j'examinai la première fois les organes de *Vanda tricolor*, je me bornai à y reconnaître la présence d'un alcaloïde et à en expérimenter quelques réactions sans chercher à en préciser le siège. C'est ainsi que j'en décelai dans les racines aériennes à quelques millimètres du sommet, dans les jeunes feuilles dont je n'examinai que des coupes transversales, et dans les fleurs dont le pédoncule et le gynostème surtout en contenaient notablement.

» Mais deux mois plus tard, quand je voulus compléter mes observations, l'alcaloïde avait disparu des feuilles et des fleurs, il n'en restait qu'auprès du point végétatif des racines.

» Il s'y trouvait dans les éléments parenchymateux du centre de la stèle, à 2-3 millimètres du méristème et sur une longueur de 10-15 millimètres.

» Au delà, les éléments de cette région avaient lignifié leur membrane et s'étaient débarrassés de leur alcaloïde.

» Je ne vis réapparaître ce corps qu'au voisinage des méristèmes qui donnent naissance aux racines adventives : là, il avait envahi les cellules de la région péricyclique de la racine mère ainsi que les éléments de l'écorce voisins des cellules en voie de recloisonnement.

» J'ai tenu à insister sur les variations de la teneur en alcaloïde des sucs de *Vanda tricolor*, parce qu'elles expliquent en grande partie comment un observateur attentif et doué d'une excellente méthode de recherche est arrivé au sujet de cette plante à des conclusions erronées. » [Note ajoutée lors de la réimpression.]

(¹) L'alcaloïde découvert dans *Dendrobium nobile* a été, de la part de M. G. Clautriau, assistant à l'Institut botanique de l'Université de Bruxelles, l'objet d'une étude macrochimique; consulter à ce sujet : DE WILDEMAN, *loc. cit.*, p. 104.

dissement, ce qui distingue encore ce précipité de la coloration produite par l'iode sur le glycogène et sur les matières hydrocarbonées;

2° L'iodure double de potassium et de bismuth, dont l'action est assez analogue à celle du réactif précédent;

3° L'iodure de mercure et de potassium additionné d'HCl, avec lequel il se forme un précipité jaunâtre;

4° L'acide phosphomolybdique, qui provoque la formation d'un précipité jaunâtre, peu abondant; une goutte d'acide azotique rend la réaction plus sensible;

5° L'acide sulfurique, lequel communique aux cellules à alcaloïde une teinte jaunâtre peu nette;

6° Le réactif de Fröhde (molybdate de soude, 1 gr.; acide sulfurique concentré, 100 gr.), dont les effets sont très variables et qui détermine, en général, dans les cellules riches en alcaloïde, une coloration jaune verdâtre.

B. *Localisation.* — *Tige.* — L'alcaloïde y est abondant. Toutes les cellules du point végétatif en renferment et il en est de même des premières ébauches foliaires; l'alcaloïde fait toutefois défaut dans les cellules à raphides. Dans l'organe arrivé à l'état adulte, l'alcaloïde se localise dans les cellules parenchymateuses et surtout dans celles qui entourent les faisceaux; on trouve la base même dans les cellules qui contiennent des grains d'amidon et de la chlorophylle. On n'observe aucun précipité dans les cellules à raphides ni dans les éléments lignifiés que nous avons signalés en exposant l'anatomie de la tige.

Racines aériennes. — Au point végétatif, toutes les cellules, y compris celles qui donneront naissance au voile, sont riches en alcaloïde; mais, au fur et à mesure que les tissus se différencient, on voit l'alcaloïde émigrer des parties périphériques vers la zone parenchymateuse, où il se maintient exclusivement et en grande abondance, surtout dans les petites cellules adossées à l'exoderme d'une part, à l'endoderme d'autre part.

L'iodure de potassium iodé détermine encore dans la paroi des cellules du voile et dans celle des éléments exodermiques et endodermiques une coloration rouge brun, mais celle-ci ne peut être attribuée à la présence d'alcaloïde, car elle persiste après l'action de l'alcool tartrique.

Feuilles. — Nous avons dit que les premières ébauches foliaires contenaient de l'alcaloïde ; dans la feuille qui a atteint son complet développement, on remarque une réaction très abondante dans les deux épidermes et dans le parenchyme chlorophyllien. Les poils immergés renferment de l'alcaloïde, et M. De Wildeman en a observé dans quelques cellules à raphides. Dans la partie engainante de la feuille adulte, où les tissus sont peu vivants, la quantité de base est relativement peu importante.

Appareil reproducteur. — Dans les enveloppes florales, l'alcaloïde se comporte comme dans les feuilles végétatives, mais la réaction est plus abondante que chez ces dernières. La face inférieure du labelle est recouverte de poils pluricellulaires à alcaloïde et l'on décèle cette substance dans le style, le stigmate, les papilles stigmatiques et les étamines ; enfin, tous les tissus de l'ovaire sont riches en alcaloïde. L'épiderme du pédoncule de la fleur contient aussi de l'alcaloïde et en quantité plus notable que le parenchyme qu'il limite.

§ 2. DENDROBIUM AINSWORTHII.

Cette Orchidacée présente, dans toutes ses parties, une structure semblable à celle de *Dendrobium nobile*.

M. De Wildeman a observé les mêmes localisations d'alcaloïde que précédemment dans les feuilles et dans l'appareil reproducteur. Nous ajouterons que dans la tige et dans la racine aérienne, l'action des réactifs cités plus haut et la topographie de la base végétale se manifestent avec les caractères que nous leur connaissons dans *Dendrobium nobile*.

§ 3. ERIA STELLATA.

A. *Action des réactifs.* — L'iodure de potassium iodé provoque un précipité de sphérules brunes à reflet bleuâtre qui sont agitées d'un vif mouvement brownien; l'acide phosphomolybdique précipite en jaune sale; l'iodure double de mercure et de potassium donne naissance à des sphérules incolores qui se fusionnent en sphérules plus volumineuses; l'iodure de potassium et de bismuth se comporte d'une manière assez semblable à celle de l'iodure de potassium iodé; le réactif de Fröhde colore en jaune verdâtre les cellules alcaloïdifères.

B. *Localisation.* — *Tige bulbeuse.* — Sous l'épiderme, formé de cellules rectangulaires à forte cuticule, se trouve un parenchyme, riche en amidon et en chlorophylle, différencié en petites et en grandes cellules. Les parois à épaississements de ces dernières sont tapissées de dépôts se colorant par IKI en brun rouge, mais il faut probablement considérer ceux-ci comme étant de nature hydrocarbonée. Au sein de ce parenchyme se trouvent noyés les faisceaux.

Comme nous l'avons vu antérieurement, toutes les cellules du point végétatif contiennent de l'alcaloïde, sauf celles à raphides; dans l'organe ayant atteint son complet développement, on n'observe plus la base que dans les petites cellules parenchymateuses signalées plus haut. Nous avons pu déceler l'alcaloïde dans la région criblée (cellules annexes) des faisceaux.

Racines aériennes. — Le voile se réduit à 3-4 assises de cellules dont certaines, de la périphérie, se prolongent en poils. Abondant au point végétatif, l'alcaloïde se localise dans l'organe adulte : dans la zone parenchymateuse, surtout dans les cellules plus petites adossées à l'exoderme et à l'endoderme, et dans quelques cellules de l'étui médullaire.

Feuilles. — Elles présentent une structure assez semblable à celles de *Dendrobium nobile;* toutefois, ici, les poils font défaut et la couche de fibres sclérenchymateuses entourant les faisceaux est, de beaucoup, plus puissante.

Nous avons retrouvé l'alcaloïde : dans les deux épidermes, dans les cellules mésophylliennes, surtout dans celles situées contre les épidermes et dans celles qui entourent les faisceaux, ainsi que dans les cellules annexes des tubes criblés.

Il ne nous a pas été donné d'étudier l'appareil reproducteur de ce végétal qui appartient à un genre voisin du genre *Dendrobium*.

§ 4. CATASETUM TABULARE. — CATASETUM HOOKERI. — CATASETUM MACROCARPUM. — CATASETUM BUNGEROTHII. — CATASETUM DISCOLOR.

Nous n'avons eu l'occasion d'examiner que la tige bulbeuse et les feuilles de ces *Catasetum* alcaloïdifères. Ils se ressemblent tous au point de vue anatomique, se comportent de même avec les réactifs des alcaloïdes, et emmagasinent la base dans les mêmes éléments histologiques.

A. *Action des réactifs.* — Les réactifs généraux qui servent le mieux à caractériser l'alcaloïde que contiennent ces plantes, sont :

1° L'iodure de potassium iodé, qui donne un précipité brun-kermès à reflet bleuâtre, peu abondant, formé de sphérules très petites, et très fugitif;

2° L'acide phosphomolybdique, qui fournit un précipité jaune verdâtre finement granuleux;

3° L'iodure de mercure et de potassium, avec lequel il se forme un abondant précipité grisâtre et fugitif, au sein de la vacuole ratatinée;

4° Le bichlorure de mercure, qui provoque la formation de petites sphérules incolores;

5° L'iodure double de bismuth et de potassium, dont l'action est ici plus caractéristique que celle de IKI. Il y a production d'un précipité granuleux brun rouge, très abondant, très persistant : il prend naissance en différents points et paraît ainsi formé d'îlots qui se réunissent vers l'intérieur de la vacuole (fig. 8);

6° Le trichlorure d'or, avec lequel il se produit des sphérules incolores;

7° Le réactif de Fröhde, qui colore en jaune verdâtre les cellules à alcaloïde.

Il ne s'est produit rien de caractéristique par l'iodure double de potassium et de cadmium, l'acide picrique, le tétrachlorure de platine, l'acide tannique, ni par le perchlorure de fer.

B. *Localisation.* — La tige est à cellules épidermiques fortement épaissies, auxquelles fait suite un parenchyme dont la plupart des éléments sont de grande dimension et pourvus d'épaississements spiralés.

Dans ce parenchyme sont distribués les faisceaux entourés de petites cellules riches en amidon.

Quand on fait agir l'iodure de potassium iodé sur une coupe de la tige, il se produit dans les cellules du parenchyme cortical une coloration brun rouge très intense, qui disparaît par la chaleur et réapparaît par refroidissement. Cette coloration doit être due à la présence de matières hydrocarbonées et ne peut être rapportée à un alcaloïde, car elle se manifeste après l'action de l'alcool tartrique.

La tige ne présente de trace d'alcaloïde dans aucun de ses tissus.

Feuilles (fig. 9). — La coupe transversale d'une feuille nous montre qu'elle est constituée par : 1° une couche de cellules épidermiques (*ep*) rectangulaires, surmontée d'une cuticule assez épaisse; 2° un mésophylle à cellules arrondies (*pa*) dont les plus externes alternent avec les éléments épidermiques, les plus petites entourant les faisceaux; 3° des faisceaux fibro-vasculaires, ceints chacun d'une gaine sclérenchymateuse (*scl*) qui s'interrompt parfois à la jonction du xylème et du liber; le faisceau qui constitue la nervure médiane acquiert un développement considérable et s'étend presque d'un épiderme à l'autre; le liber est peu développé; 4° des massifs de sclérenchyme (*m. scl*), situés dans le voisinage des deux épidermes, et 5° un épiderme (*ep'*) inférieur qui ne diffère de l'épiderme supérieur que par la dimension plus petite de ses éléments constitutifs.

Nous avons toujours observé l'alcaloïde dans les deux épidermes et dans les cellules du mésophylle, surtout dans celles voisines des épidermes ou qui entourent les faisceaux.

§ 5. Phalaenopsis Luddemanniana.

A. *Action des réactifs.* — On obtient, dans les cellules à alcaloïde de ce végétal, les réactions décrites en étudiant *Dendrobium nobile.*

B. *Localisation.* — De cette plante, très rare dans les collections, nous n'avons pu étudier qu'un fragment de tige florale et la racine aérienne dans laquelle seulement on peut déceler la présence d'alcaloïde.

Racines aériennes (fig. 10). — Anatomiquement, la racine de *Phalaenopsis Luddemanniana* diffère de notre racine typique par : 1° un voile réduit à deux assises de cellules à épaississements spiralés et dont certaines, externes, se prolongent sous forme de poils; 2° un exoderme mal défini, et 3° un endoderme dont les cellules de passage sont très étroites et à parois très minces.

Dans ce végétal encore, on observe au sommet végétatif une grande abondance d'alcaloïde dans toutes les cellules, et la différenciation en tissus est accompagnée d'une localisation de l'alcaloïde qui s'accumule chez la racine adulte dans les cellules du parenchyme, surtout dans celles adossées à l'exoderme et à l'endoderme.

RÉSULTATS GÉNÉRAUX.

Sur les 104 espèces d'Orchidacées qu'il a été possible d'examiner et qui appartiennent à 78 genres, 9 espèces se rapportant aux genres *Dendrobium*, *Eria*, *Catasetum* et *Phalaenopsis* doivent être considérées comme alcaloïdifères : les unes dans toutes leurs parties (*Dendrobium nobile*, *D. Ainsworthii* et probablement *Eria stellata*), les autres partiellement.

Nous ne pouvons nous prononcer définitivement sur la fréquence ou la rareté des alcaloïdes dans cette famille, car le nombre d'Orchidacées connues est si considérable qu'il impose de justes réserves; mais nous pourrons être plus affirmatif quant à la topographie des alcaloïdes dans ce groupe.

Les réactifs, en effet, par l'intensité de leur action, indiquent que la fonction alcaloïdique se manifeste d'une manière assez sensible dans les tissus actifs (points végétatifs de la tige et de la racine, appareil reproducteur) et qu'au fur et à mesure que les tissus se différencient, à cette différenciation correspond une émigration de la base vers des régions (épiderme, poils, parenchyme surtout autour des faisceaux) où elle semble le mieux localisée pour servir à la plante d'arme défensive. Et, si tel est l'un des rôles dévolus aux alcaloïdes, rien ne paraît mieux rendre compte de ce rôle que cette accumulation de principe dans les feuilles, dans les racines aériennes qui explorent si facilement le milieu ambiant et dont le point végétatif, très exposé, est gorgé d'alcaloïde, et enfin cette abondance dans les fleurs, dont le labelle voyant a besoin d'être protégé contre la voracité des animaux.

Les résultats auxquels nous sommes arrivé confirment d'ailleurs, une fois de plus, les idées qu'exprimait M. Léo Errera (1), sous la direction duquel ce travail a été entrepris : « Les alcaloïdes sont produits essentiellement dans les tissus actifs où les matières albuminoïdes sont soumises à des décompositions et à des transformations perpétuelles. Formés ainsi dans les tissus actifs, les alcaloïdes sont transportés vers la périphérie, de manière à s'oxyder plus facilement et à y servir en même temps à la protection de la plante contre les atteintes des animaux. »

Institut botanique de l'Université de Bruxelles.
Janvier 1896.

---

(1) ERRERA, CLAUTRIAU et MAISTRIAU, *Premières recherches sur la localisation et la signification des alcaloïdes*, p. 28. (JOURN. DE LA SOC. ROY. DES SCIENCES MÉD. ET NAT. Bruxelles, 1887.)

Liste des genres d'Orchidacées, groupés d'après la classification de Pfitzer.

I. — APOSTASIINAE.

1. *Neuwiedia.*
2. *Apostasia.*

II. — CYPRIPEDILINAE.

3. (1) * *Cypripedilum.*
4. * *Selenipedilum.*
5. *Paphiopedilum.*

III. — OPHRYDINAE.

a. SERAPIADEAE.

6. *Ophrys.*
7. *Comperia.*
8. * *Orchis.*
9. *Serapias.*
10. *Aceras.*
11. *Himantoglossum.*
12. *Anacamptis.*

b. GYMNADENIEAE.

13. *Chamaeorchis.*
14. *Herminium.*
15. *Coeloglossum.*
16. *Nigritella.*
17. *Gymnadenia.*
18. *Ponerorchis.*
19. *Stenoglottis.*
20. *Holothrix.*
?21. *Arnottia.*
22. *Platanthera.*
23. *Bicornella.*
24. *Scopularia.*
25. *Huttonaea.*
26 *Bartholina.*
27. *Derömeria.*
28. *Perularia.*

c. HABENARIEAE.

29. *Neotinea.*
30. *Diplomeris.*
31. *Cynosorchis.*
32. *Habenaria.*
33. *Montolivaea.*
34. *Barlaea.*
35. *Roeperocharis.*

d. SATYRIEAE.

36. *Pachites.*
37. *Forficaria.*
38. *Brachycorythis.*
39. *Satyrium.*
40. *Schizochilus.*
41. *Platycoryne.*
42. *Schizodium.*
43. *Brownleea.*
44. *Disa.*
45. *Herschelia.*
46. *Monadenia.*

e. CORYCIEAE.

47. *Disperis.*
48. *Pterygodium.*
49 *Ceratandra.*
50. *Corycium.*

---

(1) Les noms des genres ayant fait l'objet de nos recherches sont précédés d'un astérisque.

IV. — NEOTTIINAE.

a. THELYMITREAE.

51. *Thelymitra*
52. *Epiblema.*

b. DIURIDEAE.

53. *Diuris.*
54. *Orthoceras.*
55. *Microtis.*
56. *Prasophyllum.*

c. PTEROSTYLIDEAE.

57. *Caleana.*
58. *Drakaea.*
59. *Pterostylis.*

d. CALADENIEAE.

60. *Acianthus.*
61. *Cyrtostylis.*
62. *Calochilus.*
63. *Eriochilus.*
64. *Lyperanthus.*
65. *Burnettia.*
66. *Caladenia.*
67. *Chiloglottis.*
68. *Glossodia.*
69. *Adenochilus.*

e. CHLORAEEAE.

70. *Chloraea.*
71. *Bieneria.*
72. *Bipinnula.*

f. POGONIEAE.

73. *Corysanthes.*
74. *Pogonia.*
75. *Cleistes.*
76. *Triphora.*
77. *Codonorchis.*
78. *Nervilia.*
79. *Chlorosa.*
80. *Cryptostylis.*
81. *Stereosandra.*
82. *Lecanorchis.*
83. *Arethusa.*
84. *Galera.*

g. VANILLEAE.

85. *Epistephium.*
86. *Galeola.*
87. *Eriaxis.*
88. *Cyrtosia.*
89. **Vanilla.*

h. CEPHALANTHEREAE.

90. *Cephalanthera.*
91. **Epipactis.*
92. *Limodorum.*
93. *Epipogon.*
94. *Aphyllorchis.*

i. GASTRODIEAE.

95. *Gastrodia.*
96. *Leucorchis.*

k. SPIRANTHEAE.

97. *Pelexia.*
98. *Baskervillea.*
99. *Spiranthes.*
100. *Sarcoglottis.*
101. *Sauroglossum.*
102. *Stenorrhynchus.*
103. *Listera.*
104. *Neottia.*

l. PHYSUREAE.

105. *Vrydagzynea.*
106. *Cystorchis.*
107. *Physurus.*

108. *Queteletia.*
109. *Anoectochilus.*
110. *Herpysma.*
111. *Zeuxine.*
112. *Cheirostylis.*
113. **Goodyera.*
114. *Moerenhoutia.*
115. *Lepidogyne.*
116. *Hetaeria.*
117. *Odontochilus.*
118. *Myrmechis.*
119. *Dossinia.*
120. **Macodes.*
121. *Haemaria.*
122. *Hylophila.*
123. *Salacistis.*
124. *Platylepis.*
125. *Eucosia.*
126. *Gymnochilus.*
127. *Argyrorchis.*
128. *Yoania.*

m. CRANICHIDEAE.

129. *Wullschlägelia.*
130. *Pseudocentrum.*
131. *Altensteinia.*
132. *Pterichis.*
133. *Cranichis.*
134. *Gomphichis.*
135. *Stenoptera.*
136. *Prescottia.*
?137. *Manniella.*
138. *Ponthieva.*

n. TROPIDIEAE.

139. *Tropidia.*
140. *Corymbis.*

V. — THUNIINAE.

141. **Thunia.*
?142. *Arundina.*
143. *Bletilla.*
144. **Trichosma.*

VI. — COLLABIINAE.

145. *Nephelaphyllum.*
146. *Collabium.*
147. *Chrysoglossum.*
148. *Diglyphosa.*

VII. — CŒLOGYNINAE.

?149. *Josepha.*
150. **Coelogyne.*
151. **Pleione.*
152. *Neogyne.*
153. *Otochilus.*
154. **Pholidota.*
155. *Platyclinis.*
?156. **Sturmia.*

VIII. — LIPARIDINAE.

156^{bis}. *Malaxis.*
157. *Microstylis.*
158. *Orestia.*
159. *Ephippianthus.*
160. *Liparis.*
161. *Cestichis.*
162. *Oberonia.*
163. *Calypso.*
164. *Coralliorrhiza.*

IX. — POLYSTACHYINAE.

?165. *Tipularia.*
166. *Acrolophia.*
167. **Galeandra.*
?168. *Oreorchis.*
169. **Polystachya.*
170. **Ansellia.*
?171. *Bromheadia.*

X. — PODOCHILINAE.

172. *Podochilus.*
173. *Appendicula.*

XI. — GLOMERINAE.

174. *Earina.*
175. *Glomera.*
176. *Agrostophyllum.*
177. *Callostylis.*
178. *Ceratostylis.*
?179. *Cryptochilus.*

XII. — PLEUROTHALLIDINAE.

180. *Physosiphon.*
181. **Masdevallia.*
182. *Cryptophoranthus.*
183. **Stelis.*
184. *Scaphosepalum.*
185. **Restrepia.*
186. **Pleurothallis.*
187. *Lepanthes.*
188. **Octomeria.*
189. *Brachionidium.*

XIII. — LAELIINAE.

a. PONEREAE.

190. *Isochilus.*
191. **Tetragamestus.*
192. **Scaphyglottis.*
193. **Ponera.*
194. *Hexadesmia.*
195. *Octadesmia.*
196. **Coelia.*
197. *Hexisea.*
198. **Amblostoma.*
199. *Seraphyta.*
200. *Diothonaea.*
201. **Arpophyllum.*
202. *Hartwegia.*

b. LAELIINAE.

203. **Epidendrum.*
204. *Diacrium.*
205. **Cattleya.*
206. **Laelia.*
207. **Schomburgkia.*
208. **Brassavola.*
209. **Sophronitis.*
210. *Meiracyllium.*
211. **Leptotes.*

XIV. — SOBRALIINAE.

212. *Elleanthus.*
213. *Sertifera.*
214. **Sobralia.*
215. *Fregea.*
216. *Calopogon.*
?217. *Hexalectris.*

XV. — PHAJINAE.

218. **Phajus.*
219. **Calanthe.*
220. *Preptanthe.*
221. *Limatodes.*
222. *Calanthidium.*
223. *Tainia.*
224. **Chysis.*
225. *Ipsea.*
226. *Plocoglottis.*
227. **Bletia.*
228. *Spathoglottis.*
229. *Aplectrum.*
230. *Acanthephippium.*
231. *Anthogonium.*
232. *Pachystoma.*

XVI. — CYRTOPODIINAE.

233. *Geodorum.*
234. *Lissochilus.*
235. **Eulophia.*
236. *Cremastra.*
237. *Dactylostalix.*
238. *Pteroglossaspis.*
239. *Cyrtopodium.*
240. *Govenia.*
241. *Warrea.*

XVII. — CATASETINAE.

242. **Mormodes*.
243. **Catasetum*.
244. *Cycnoches.*

XVIII. — LYCASTINAE.

245. **Anguloa*.
246. **Lycaste*.
247. *Paphinia.*
248. **Xylobium*.
249. *Batemania.*
250. **Bifrenaria*.

XIX. — GONGORINAE.

251. *Lacaena.*
252. *Peristeria.*
253. *Acineta.*
254. *Coeliopsis.*
255. *Sievekingia.*
256. *Lycomormium.*
257. *Coryanthes.*
258. *Paradisanthus.*
259. *Aganisia.*
260. **Stanhopea*.
261. *Stanhopeastrum.*
262. *Chrysocycnis.*
263. *Polycycnis.*
264. *Houlletia.*
265. *Kegelia.*
266. *Schlimia.*
267. **Gongora*.
268. *Cirrhaea.*

XX. — ZYGOPETALINAE.

269. *Köllensteinia.*
270. **Colax*.
271. **Zygopetalum*.
272. *Zygosepalum.*
?273. *Galeottia.*
274. *Eriopsis.*

XXI. — DENDROBIINAE.

275. *Latourea.*
276. **Dendrobium*.
277. *Aporum.*
278. **Eria*.
279. *Porpax.*
280. *Phreatia.*

XXII. — BOLBOPHYLLINAE.

281. *Drymoda.*
282. *Monomeria.*
283. *Sunipia.*
284. *Ione.*
285. **Cirrhopetalum*.
286. **Bolbophyllum*.
287. *Bolbophyllaria.*
288. *Megaclinium.*
289. *Trias.*
290. *Epicranthes.*
291. **Dendrochilum*.
292. *Osyricera.*
293. *Acrochaene.*
?294 *Panisea.*

XXIII. — THELASINAE.

295. *Thelasis.*
?296. *Acriopsis.*

XXIV. — CYMBIDIINAE.

297. **Grammatophyllum*.
298. *Wailesia.*
299. *Dipodium.*
300. *Eulophiopsis.*
301. *Cyperorchis.*
302. **Cymbidium*.
303. *Grammangis.*
?304. **Grobya*.

XXV. — THECOSTELINA.

305. *Thecostele.*

XXVI. — STENIINAE.

306. *Stenia.*

XXVII. — MAXILLARIINAE.

307. *Mormolyce.*
308. **Maxillaria.*
309. **Scuticaria.*
310. *Camaridium.*
311. *Ornithidium.*
312. *Trigonidium.*
313. *Eulophidium.*

XXVIII. — ONCIDIINAE.

a. NOTYLIEAE.

314. *Telipogon.*
315. *Trichoceros.*
316. *Macradenia.*
317. *Warmingia.*
318. *Notylia.*

b. IONOPSIDEAE.

319. *Trichocentrum.*
320. *Papperitzia*
321. **Rodriguezia.*
322. *Ionopsis.*
323. *Scelochilus.*
324. *Comparettia.*
325. *Plectrophora.*
326. *Diadenium.*
327. *Chaenanthe.*
328. *Saundersia.*
329. *Brachtia.*

c. ADEAE.

330. **Ada.*
331. **Mesospinidium.*
332. *Neodryas.*
333. *Sutrina.*
334. *Trizeuxis.*
335. *Quekettia.*
336. *Cohniella.*

d. TRICHOPILIEAE.

337. **Trichopilia.*
338. *Helcia.*

e. ASPASIEAE.

339. **Aspasia.*
340. *Dignathe.*
341. **Cochlioda.*

f. ODONTOGLOSSEAE.

342. *Zygostates.*
343. *Hofmeisterella.*
344. *Ornithocephalus.*
?345 *Plymatidium.*
346. **Odontoglossum.*
347. *Abola.*
348. *Gomeza.*
349. **Palumbina.*
350. *Brassia.*
351. **Miltonia.*
352. **Oncidium.*
353. *Lockhartia.*
354. *Cryptarrhena.*
355. *Sigmatostalix.*
356. *Solenidium.*
357. *Chytroglossa.*

XXIX. — HUNTLEYINAE.

358. *Promenaea.*
359. *Kefersteinia.*
360. *Chondrorrhyncha.*
361. *Cheiradenia.*
362. **Warscewiczella.*
363. *Pescatorea.*
364. *Bollea.*
365. **Huntleya.*
366. *Chaubardia.*

XXX. — DICHAEINAE.

367. *Dichaea.*
368. *Dichaeopsis.*

XXXI. — SARCANTHINAE.

a. PACHYPHYLLEAE.

369. *Pachyphyllum.*
370. *Nasonia.*
371. *Centropetalum.*

b. AERIDEAE.

372. *Diplocentrum.*
373. *Renanthera.*
374. *Esmeralda.*
375. *Vandopsis.*
376. *Luisia.*
377. *Cottonia.*
378. *Stauropsis.*
379. *Polychilos.*
380. **Phalaenopsis.*
381. *Doritis.*
382. *Sarcanthus.*
383. **Cleisostoma.*
384. *Echioglossum.*
385. *Microsaccus.*
386. *Schönorchis.*
387. **Saccolabium.*
388. *Ceratochilus.*
389. *Acampe.*
390. *Uncifera.*
391. **Vanda.*
392. **Angrecum.*
393. *Aerangis.*
394. *Macroplectrum.*
395. *Polyrrhiza.*
396. *Campylocentrum.*
397. *Oeonia.*
398. *Listrostachys.*
399. *Mystacidium.*
400. *Cryptopus.*
401. *Dendrophylax.*
402. *Taeniophyllum.*
403. *Chiloschista.*
404. **Aerides.*
405. *Grosourdya.*
406. *Sarcochilus.*
407. *Camarotis.*
408. *Rhynchostylis.*
409. *Aeranthus.*
410. *Trichoglottis.*

EXPLICATION DE LA PLANCHE

La coloration brun rouge indique la localisation de l'alcaloïde. — Grossissement : 245 diamètres.

Dendrobium nobile.

FIG. 1. — Segment de la coupe transversale de la tige : *c,* cuticule; *ep,* épiderme; *scl,* zone sclérenchymateuse; *pc,* parenchyme cortical; *cp,* cellules à ponctuations elliptiques; *cl,* cellules à paroi lignifiée.

FIG. 2. — Portion de la coupe précédente montrant la structure d'un faisceau fibro-vasculaire : *co,* cellule oxalifère; *si,* cellule silicifère; *cf',* *cf'',* cellules circumfasciculaires; *l,* liber; *x,* xylème; *cp,* cellule ponctuée.

FIG. 3. — Portion de la racine aérienne circonscrite au cylindre central, coupe transversale : *v,* voile; *exd,* exoderme; *cp,* cellule de passage (« Durchgangszellen » de Leitgeb); *pa,* parenchyme; *end,* endoderme.

FIG. 4. — Coupe transversale de la feuille : *c,* cuticule; *ep,* épiderme supérieur; *pa,* parenchyme ou mésophylle; *scl,* sclérenchyme; *x,* xylème; *l,* liber; *cp,* élément ponctué; *ep',* épiderme inférieur.

FIG. 5. — Poil immergé en coupe transversale : *pi,* poil; *ep, pa, c,* comme plus haut.

FIG. 6. — Trois poils immergés associés.

FIG. 7. — Épiderme inférieur montrant la cuticule allant d'une chambre respiratoire à l'autre : *st,* stomate; *chr,* chambre sous-stomatique ou respiratoire; *c,* cuticule; *pa, ep',* comme précédemment.

Catasetum Hookeri.

FIG. 8. — Trois cellules épidermiques de la feuille montrant les différentes phases (α, β, γ) de l'action de l'iodure de bismuth et de mercure.

Catasetum macrocarpum.

FIG. 9. — Coupe transversale de la feuille : *c*, *ep*, *ep'*, *pa*, *scl*, *x*, *l*, comme plus haut ; *m. scl*, massif de fibres sclérenchymateuses.

Phalaenopsis Luddemanniana.

FIG. 10. — Portion de la coupe transversale de la racine aérienne.

Fig. 1

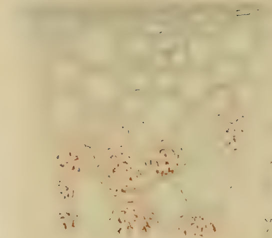


Fig. 2

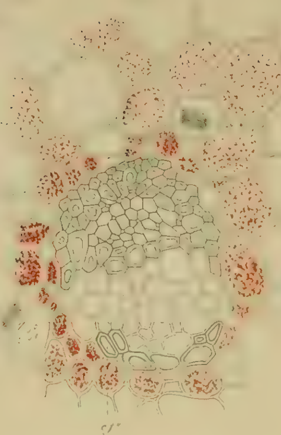


Fig. 6

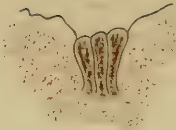


Fig. 9

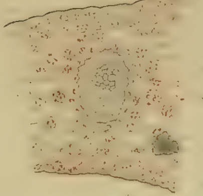


Fig. 5

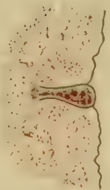


Fig. 8

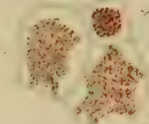


Fig. 7

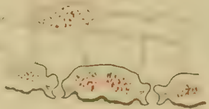


Fig. 4

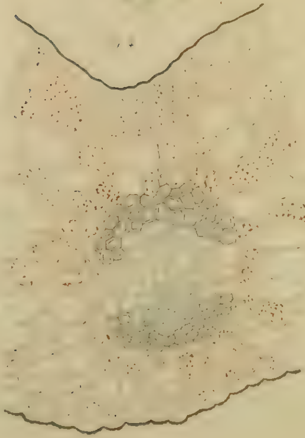


Fig. 10

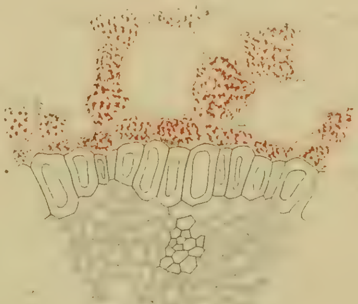
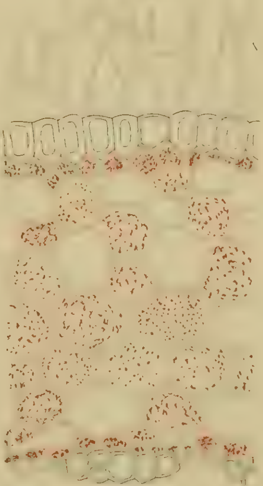


Fig. 3



E. De Bary ad nat. del.

[illegible] Imp.

[illegible] Lith.

BIBLIOGRAPHIE

DES

ALCALOÏDES, GLYCOSIDES, TANNINS, ETC.

RÉUNIE PAR

L. ERRERA

ALCALOÏDES

I. — GÉNÉRALITÉS

Brühl (J.-W.), in Gemeinschaft mit E. Hjelt et O. Aschan, Die Pflanzenalkaloïde. Braunschweig, Vieweg und Sohn, 1900.

Cornevin (C.), Des plantes vénéneuses et des empoisonnements qu'elles déterminent. Paris, Didot et C^ie^, 1887.

De Vries (H.), Ueber einige Nebenproducte des pflanzlichen Stoffwechsels. (*Landwirthschaftliche Jahrbücher*, **10**, 687 [1881].)

Dragendorf (G.), Die Heilpflanzen der verschiedenen Völker und Zeiten, ihre Anwendung, wesentlichen Bestandtheile und Geschichte. Stuttgart, F. Enke, 1898.

Dufour (J.), Notices microchimiques sur le tissu épidermique des végétaux. (*Bull. Soc. vaud. des Sc. nat.*, [3], **22**, 134 [1886].)

D'après l'auteur, l'IKI produit dans l'épiderme de *Linaria striata* un précipité brun, cristallin, finement granuleux.

Ecalle, Nouveau procédé de dosage des alcaloïdes. Paris, J.-B. Baillière et fils, 1902.

Edinger (Alb.), Die Entwickelung der Alkaloïd-Chemie im 19. Jahrhundert und ihre Bedeutung für die Medicin. (*Ber. Naturf.-Ges. Freiburg i. Br.*, 1901, pp. 96 et 118.)

Eykman (J.-F.), Notes phytochimiques. (*Ann. du Jard. bot. de Buitenzorg*, **7**, 224 [1888].)

Greshoff (M.), Eerste verslag van het onderzoek naar de plantenstoffen van Nederlandsch Indie. (*Mededeel. uit 's Lands Plantentuin*, n° 7, 1890.)

Greshoff (M.), Vischvergiften. (*Mededeel. uit 's Lands Plantentuin*, 1900.)

L'auteur explique les limites de son sujet et dit qu'il veut jeter les bases d'une phytochimie comparée; il donne une bonne liste des plantes toxiques.

Husemann (A. et Th.) et Hilger (A.), Die Pflanzenstoffe in chemischer, physiologischer, pharmakologischer und toxikologischer Hinsicht. Berlin, Springer, 1884.

Liebermann (L.), Beitrag zur forensischen Untersuchung auf Alkaloïde. (*Ber. deutsch. chem. Ges.*, **9**, 151 [1876].)

Maquenne (L.) et Philippe (L.), Recherches sur la ricinine. (*Comptes rendus de l'Acad. des Sc. Paris*, **138**, 506 [1904].)

La ricinine serait un dérivé pyridique.

Mattirolo (O.) et Buscalioni (L.), Ricerche anatomo-fisiologiche sui tegumenti seminali delle Papilionacee. (*Mem. del. Accad. del. Sc. di Torino*, [2], **42** [1892].)

Pictet (A.), Die Pflanzenalkaloïde und ihre chemische Konstitution. Deutsche Bearbeitung. Berlin, 1891.

Radlkofer (L.), Ueber fischvergiftende Pflanzen. (*Sb. bayer. Akad. Math.-phys. Kl.*, 1886, p. 405.)

Ritsema (I. C.) et Sack (J.), Index phytochemicus. Amsterdam, de Bussy, 1905.

Rochebrune (A. de), Toxicologie africaine. Étude botanique, historique, ethnographique, chimique, physiologique, thérapeutique, pharmaceutique, posologique, etc., sur les végétaux toxiques et suspects propres au continent africain et aux îles adjacentes. 1er fasc., Paris, Doin, 1896.

Schmidt (J.), Ueber die Erforschung der Constitution und die Versuche zur Synthese wichtiger Pflanzenalkaloïde. Stuttgart, 1900.

Schlotterbeck (J.-O.), Beiträge zur Entwicklungsgeschichte pharmakognostisch wichtiger Samen. Inaugural Dissertation, Bern, 1896.

II. — LOCALISATION DANS LES VÉGÉTAUX.

Réactions chimiques.

Arnold (C.), Neue Farbenreactionen der Alkaloïde. (*Archiv der Pharmacie*, **220**, 561 [1882].)

Astruc (A.), Action des alcaloïdes végétaux sur quelques réactifs indicateurs. (*Comptes rendus de l'Acad. des sc. Paris*, **133**, 98 [1901].)

Il s'agit des phénomènes alcalimétriques et acidimétriques des divers alcaloïdes dans divers milieux (eau, alcool, etc.).

BARTH (H.), Studien über den mikrochemischen Nachweis von Alkaloïden in pharmaceutisch verwendeten Drogen. (*Bot. Centralbl.*, **75**, 225 [1898].)

L'auteur conteste les conclusions de Clautriau sur *Datura* et a refait les expériences avec *Conium, Aconitum, Datura.*

Il a étudié microchimiquement diverses drogues : *Conium,* Solanacées, *Colchicum, Aconitum, Sabadilla, Areca, Physostigma, Strychnos* (strychnine et brucine).

Les alcaloïdes existent dans l'enveloppe du fruit ou de la graine; dans l'assise nourricière, dans l'endosperme et dans l'embryon, ou dans l'embryon seul. Leur fonction est variable : protection, réserve azotée.

BEHRENS (W.), Hilfsbuch zur Ausführung mikroskopischer Untersuchungen im botanischen Laboratorium. Braunschweig, 1883.

BERTRAND (G.), L'acide silico-tungstique comme réactif des alcaloïdes. (*Comptes rendus de l'Acad. des sc. Paris*, **128**, 742 [1899].)

« On a déjà proposé un assez grand nombre de réactifs généraux des alcaloïdes : l'acide silico-tungstique, dont je viens d'étudier l'emploi à ce point de vue, me paraît supérieur à tous » : il donne des sels définis, sa sensibilité est la plus grande de tous, etc.

L'acide silico-tungstique $12WO3.SiO^2.2H^2O$ s'obtient aisément en suivant les indications de Wyronboff (*Bull. Soc. minéralogie,* t. XIX, 1896). On l'emploie en solution à 5 °/₀ environ.

Ce réactif donne dans les solutions suffisamment concentrées et froides des sels d'alcaloïdes, des précipités ordinairement floconneux, blancs ou pâles (jaune, chamois, saumon), presque insolubles dans l'eau froide, même dans des acides assez concentrés, un peu plus solubles dans l'eau bouillante. Ce sont des silico-tungstates neutres.

Le précipité de morphine est saumon; celui de strychnine, chamois. En chauffant le précipité, il perd de l'eau et le nouveau précipité est pulvérulent et, avec divers alcaloïdes, il est plus visible que le précipité obtenu à froid. Le précipité est décomposé par les alcalis étendus et l'alcaloïde est régénéré.

Voici les limites de sensibilité en opérant sur 5 c. c. de solution additionnée de 1 à 2 gouttes de silico-tungstate de Na et autant d'acide chlorhydrique au dixième. Le premier groupe comprend les alcaloïdes dont les deux hydrates sont également perceptibles; le second, ceux dont le silico-tungstate devient beaucoup plus visible par chauffage à l'ébullition et refroidissement.

Premier groupe.	
Conicine	$\frac{1}{8\,000}$
Morphine	$\frac{1}{16\,000}$
Théobromine	$\frac{1}{18\,000}$
Nicotine	$\frac{1}{20\,000}$
Narcéine	$\frac{1}{30\,000}$
Codéine	$\frac{1}{40\,000}$
Atropine Caféine	$\frac{1}{50\,000}$
Cocaïne	$\frac{1}{200\,000}$

Deuxième groupe.	
Aconitine	$\frac{1}{80\,000}$
Vératrine	$\frac{1}{130\,000}$
Brucine	$\frac{1}{150\,000}$
Strychnine Narcotine	$\frac{1}{200\,000}$
Quinine Quinidine Cinchonine Cinchonidine	$\frac{1}{500\,000}$

BORSCOW (E.), Beiträge zur Histochemie der Pflanzen. (*Bot. Zeitschr.*, **32**, 38 [1874].)

CHATIN (J.), Du siège des substances actives dans les plantes médicinales. Thèse doctorale, Paris, 1876.

CHIBRET (P.), Nouvelle méthode d'examen quantitatif ou qualitatif des albuminoïdes, diastases, alcaloïdes, leucomaïnes ou toxines, notamment ceux des urines. (*Comptes rendus de l'Acad. des sc. Paris*, **128**, 431 [1899].)

En perfectionnant ce qu'il a indiqué en 1886, l'auteur est parvenu à établir une méthode qui permet de déceler dans l'eau ou dans l'urine toute une série de corps azotés, sans agir ni sur l'urée ni sur l'acide urique ou les urates.

On prend un tube à réactif soigneusement frotté et lavé à la potasse, puis à l'eau; on y verse 2 c. c. d'une solution à $\frac{1}{800\,000}$ de chlorhydrate de cocaïne, on laisse tomber 3 gouttes d'AzO_3H, on agite, on laisse tomber 3 gouttes du réactif iodé dont voici la formule :

Iode : 47 gr., KI : 58, eau distillée : 60.

En éclairant alors le tube convenablement, on voit qu'il présente une *opalescence* qu'il n'avait pas. Il nomme ce trouble *opalescence étalon*. On obtient la même opalescence avec :

Albumine de l'œuf et peptones. . . . . = $\frac{1}{20\,000}$
Créatinine . . . . = $\frac{1}{1\,000}$
Xanthine . . . . = $\frac{1}{5\,000}$
Pepsine. . . . . = $\frac{1}{50\,000}$
Alcaloïdes . . . . = $\frac{1}{800\,000}$

Il donne ensuite des indications pour les urines. L'urine normale donnerait l'opalescence étalon de $\frac{1}{30}$ à $\frac{1}{50}$; dans l'inanition, $\frac{1}{10}$; chez les individus surmenés, etc., $\frac{1}{100}$ à $\frac{1}{200}$, etc.

Chibret et Izarn, D'un nouveau mode d'emploi du réactif iodo-ioduré dans la recherche des alcaloïdes et en particulier des leucomaïnes de l'urine. (*Comptes rendus de l'Acad. des sc. Paris*, **102**, 1172 [1886].)

Le réactif de Bouchardat (1 iode, 2 KI, $50H^2O$) ou mieux les proportions suivantes : 8 iode, 10 KI, 10 eau, précipite les alcaloïdes ($\frac{1}{50\,000}$ de morphine par exemple) et donne dans l'urine, même normale, une réaction faible d'alcaloïdes consistant en une fluorescence verte. Cela est dû, d'après les auteurs, aux leucomaïnes urinaires.

Ciotto (F.) et Spica (P.), Ueber einige Beobachtungen auf dem Gebiete der toxikologischen Chemie. (*Ber. deutsch. chem. Ges.*, **24**, 408 [1891].)

Glaser (L.), Mikroskopische Analyse der Blattpulver von Arzneipflanzen. Inaugural Dissertation, Würzburg, 1901.

Gordin (H.-M.), Eine einfache alkalimetrische Methode, salzbildende Alkaloïde unter Anwendung von Phenolphtalein als Indicator zu bestimmen. (*Ber. deutsch. chem. Ges.*, **32**, 2871 [1899].)

Greenish (H.) et Collin (E.), Vegetable powders and their diagnostic characters. (*Pharmaceutical Journ.*, **4**, 411 [1902].)

Jolles (A.), Ueber eine quantitative Reaction bei den Ureïden und Purinderivaten. (*Ber. deutsch. chem. Ges.*, **33**, 1246 [1900].)

Koch (Ludw.), Die mikroskopische Analyse der Drogenpulver, 1900.

Molisch (H.), Grundriss einer Histochemie der pflanzlichen Genussmittel. (*Zeitschr. f. wiss. Mikr.*, **8**, 119 [1891].)

L'auteur étudie les denrées alcaloïdifères : café, kola, thé, cacao, poivre, moutarde, tabac, et les denrées non alcaloïdifères : piment, girofle, vanille, paprica, safran et cannelle.

Il traite généralement la recherche microchimique de ces produits dans les différents végétaux.

Pozzi-Escot (E.), Contribution à la recherche microchimique des alcaloïdes. (*Comptes rendus de l'Acad. des sc. Paris*, **132**, 1062 [1901].)

Rosoll (A.), Ueber den mikrochemischen Nachweis der Glycoside und der Alkaloïde in den vegetabilischen Geweben. (*Jahresb. der niederösterr. Landesrealgymn. Stockerau*, **25** [1890].)

Rosoll (A.), Ueber den mikrochemischen Nachweis des Curcumins und Conicins in den vegetabilischen Geweben. (*Jahresb. der niederösterr. Landes-Oberrealschule*, Wiener-Neustadt, 1894.)

Rosoll (A.), Beiträge zur Histochemie der Pflanzen. (*Zeitschr. f. wiss. Mikrosk.*, **1**, 463 [1884].)

Rosoll (A.), Beiträge zur Histochemie der Pflanzen. (*Sitzungsber. der math.-naturw. Kl. der Wiener Akad.*, **89**, 137 [1884].)

L'auteur s'occupe de l'hélichrysine, de « Pilzfarbstoffe » (*Peziza aurantia, P. convexula, Panus stipticus*), de la saponine et de la strychnine.

Sauvan (L.), Localisation des principes actifs dans quelques végétaux. (*Journ. de bot.*, 1896, nos 7 et 8.)

III. — SIGNIFICATION PHYSIOLOGIQUE.

ALBO (G.), Sulla funzione fisiologica della solanina. (*Contrib. alla biologia veget.*, **2**, 185, Palermo [1899].)

L'auteur a pratiqué microchimiquement la réaction de Mandelin (vanadate d'ammoniaque en solution d'acide sulfurique), l'acide sulfurique alcoolique, la réaction de Brandt (acide sulfo-sélénique). Il a traité au préalable les coupes par l'éther (pour enlever les pigments). L'auteur a suivi pendant six mois, « jour par jour », microchimiquement les variations de la solanine dans les graines germantes de diverses Solanées et les tubercules germants de *Solanum tuberosum*.

D'abord la solanine ne se trouve que dans les cotylédons, puis aussi dans le haut de l'hypocotyle et dans la tige. Sa quantité diminue; elle disparaît des racines et des tiges et il n'en reste des traces que dans les jeunes feuilles et les organes à croissance rapide. Ensuite la quantité augmente de nouveau. Dans les tubercules de *Solanum tuberosum*, la solanine se localise surtout dans les couches de « phellogène péridermique ». Lors de la germination, la solanine abonde dans les bourgeons et les radicelles.

A l'obscurité, les plantules étiolées ont aussi de la solanine, mais elle disparaît des cotylédons, au centre d'abord, puis aux bords et à leur pointe. Enfin toute la solanine finit par disparaître et la plantule elle-même meurt. Mêmes observations sur les germinations de tubercules de pommes de terre à l'obscurité.

La solanine émigre du tubercule vers les rameaux étiolés, elle y diminue, disparaît, la plante meurt. Dans une atmosphère privée de CO^2, les plantules ont de la solanine au début, mais elle disparaît bientôt et la plantule meurt. Si l'on remet à la lumière des plantules à étudier, qui n'ont plus de solanine, elle réapparaît dans les tissus, mais non dans le parenchyme assimilateur des feuilles. La solanine n'est pas, comme l'asparagine, la forme de transport des albuminoïdes de réserve, c'est plutôt une *réserve nutritive* que la plante utilise et qu'elle reforme si elle est dans des conditions favorables d'assimilation. Étant glycosidique, la solanine est à la fois réserve sucrée et azotée. Elle peut en outre servir à la défense contre certains animaux.

ALBO (G.), Funzione fisiologica di alcuni alcaloidi vegetali. (*Inst. bot. dell' Univ. di Palermo*, 1900.)

BEILSTEIN (F.), Handbuch der organischen Chemie, 1re édition.

Les têtes de Pavot sont les plus riches en latex et en morphine peu avant la maturité. « Die reifen Mohnköpfe enthalten weder Milchsaft noch Morphin » (t. II, p. 1943).

CLAUTRIAU (G.), Localisation et signification des alcaloïdes dans quelques graines. (*Ann. Soc. belge microsc.* (*Mémoires*), **18**, 35 [1894].)

D'après les indications de Clautriau, il est probable que l'alcaloïde quitte peu à peu les graines de *Datura* pendant qu'elles s'imbibent d'eau en germant. De sorte que ceci seul indique déjà que ce ne saurait être une réserve azotée.

CORNEVIN, Action des poisons sur la germination. (*Comptes rendus de l'Acad. des sc. Paris*, **113**, 274 [1891].)

DETMER (W.), Vergleichende Physiologie des Keimungsprocesses der Samen. Jena, G. Fischer, 1880.

Voir pp. 133-138 pour la lupinine.

EBERMAYER (E.), Physiologische Chemie der Pflanzen : Die stickstoffhaltigen Erzeugnisse der Pflanzen. Berlin, 1882.

Les alcaloïdes (p. 581) se trouvent toujours en très petite quantité dans les sucs végétaux, et toujours combinés à des acides organiques (acide malique, acide tannique, etc.).

Ces sels sont assez solubles dans l'eau, tandis que les bases isolées le sont fort peu.

Les alcaloïdes végétaux appartiennent la plupart à la série pyridique.

HECKEL (E.), Sur l'utilisation et les transformations de quelques alcaloïdes dans la graine pendant la germination. (*Comptes rendus de l'Acad. des sc. Paris*, **110**, 88 [1890].)

L'auteur montre que dans la germination des graines de Kola (*Sterculia acuminata*) la caféine disparaît peu à peu. Les graines fraîches en renferment 2gr37 %; après une année, il en reste 1gr072; après deux ans, 0gr70; après trois ans, 0gr21. [D'après le texte, il semble que Heckel n'ait analysé que les cotylédons après la germination, de sorte qu'il faudrait ajouter à ces trois derniers chiffres la caféine contenue dans le reste de la plantule.] « En même temps », dit-il, « que la caféine disparaît, il se forme

dans la graine deux produits nouveaux : 1° de la chlorophylle; 2° du nitrate de potasse, qui n'existent jamais dans les cotylédons non fermés. » [Rien ne prouve que le AZO^3K ne vienne pas du sol, comme dans les autres cas analogues. Heckel dit cependant : « ce phénomène de nitrification », comme si c'était prouvé. En réalité, l'auteur a seulement établi la *disparition* de la caféine, ce qui était établi pour d'autres alcaloïdes et ne signifie rien (cf. *Biolog. Centralbl.*, 1er juin 1887, p. 207), puisque cela a même lieu dans les plantes mortes.]

Dans le *Strychnos Nux vomica* et le *Datura Stramonium*, tous les alcaloïdes renfermés dans l'endosperme disparaissent en deux à cinq mois; sous l'influence de l'embryon, privées de leur germe et en terre humide, les graines conservent longtemps leur alcaloïde sans transformation.

Dans *Physostigma venenosum*, « l'ésérine est transformée pendant le mouvement germinatif dans les cotylédons eux-mêmes, que la graine ait été semée avec ou sans gemmule ».

La conclusion surtout me paraît injustifiée :

« Du reste, que les graines soient ou non pourvues d'endosperme, la disparition des alcaloïdes dans les organes où ils se localisent est complète à un moment donné, et ces alcaloïdes transformés ont passé dans la jeune plante, car on ne retrouve plus, par l'analyse, dans la graine, ni les alcaloïdes... ni les substances azotées auxquelles ils donnent forcément naissance par leur transformation. » [De là résulte évidemment la disparition, mais nullement le passage dans la jeune plante.] « Il reste à connaître la nature des modifications subies par les alcaloïdes. Mais il demeure démontré par ces faits que, contrairement à certaines opinions, les alcaloïdes sont dans les semences de véritables *réserves alimentaires*, qui pour être assimilées ont besoin d'être transformées dans leur constitution chimique... »

KOSINSKI (J.), Die Athmung bei Hungerzuständen und unter Einwirkung von mechanischen und chemischen Reizmitteln bei *Aspergillus niger*. (*Jahrb. f. wiss. Bot.*, **37**, 137 [1901].)

Les alcaloïdes (strychnine, cocaïne) en petite quantité amènent une légère augmentation dans la respiration de l'*Aspergillus niger*.

LEMATRE (G.), Du mode d'action physiologique des alcaloïdes. Thèse, Paris, 1866.

LUTZ (L.), Sur le rôle des alcaloïdes envisagés comme source d'azote pour les végétaux. (*Bull. Soc. bot. France*, **50**, 118 [1903].)

Malvoz (E.), De la putréfaction au point de vue de l'hygiène publique et de la médecine légale. (*Mém. de l'Acad. roy. de méd. de Belgique*, 1896-1897.)

Action des microbes sur l'atropine (qu'ils détruisent) et sur la strychnine (qu'ils ne détruisent pas) [pp. 108, 109].

Morkowine (N.), Recherches sur l'influence des anesthésiques sur la respiration des plantes. (*Rev. gén. de bot.*, **11**, 341 [1899].)

L'auteur trouve que les alcaloïdes (morphine, solanine) augmentent l'intensité de la respiration (p. 349). Cela le conduit (p. 352) à cette idée assez hasardeuse, que les alcaloïdes seraient « des combinaisons nécessaires aux échanges nutritifs et non des sécrétions inutiles à la plante ». Cette supposition nous semble d'autant plus vraisemblable que beaucoup d'alcaloïdes se trouvent dans les organes vivants, comme la racine, l'écorce, les feuilles, les graines, etc., dont l'activité vitale se manifeste très énergiquement.

Morkowine (N.), Recherches sur l'influence des alcaloïdes sur la respiration des plantes. (*Rev. gén. de bot.*, **13**, 177 [1901].)

Overton (E.), Ueber die osmotischen Eigenschaften der lebenden Pflanzen- und Thierzelle. (*Vierteljahrsschr. Naturf. Ges. Zurich*, 1895.)

Overton (E.), Ueber die osmotischen Eigenschaften der Zelle in ihrer Bedeutung für die Toxikologie und Pharmakologie. (*Festschr. Naturf. Ges. Zurich*, 1896.)

Overton (E.), Ueber die osmotischen Eigenschaften der Zelle in ihrer Bedeutung für die Toxikologie und Pharmakologie. (*Zeitschr. f. phys. Chem.*, **22**, 189 [1897].)

L'auteur y étudie la pénétration de divers alcaloïdes dans les cellules végétales et établit que, pour les cellules végétales, les sels des alcaloïdes sont moins toxiques que les alcaloïdes mêmes.

Richet (Ch.), Les poisons et la température. (*Revue scientifique*, **37**, 75 [1886].)

L'auteur classe les alcaloïdes, d'après leur action physiologique, en cinq groupes dont les types sont : la strychnine, l'aconitine, la morphine, le curare et l'atropine.

RUSSELL (M.-W.), Sur le siège de quelques principes actifs des végétaux pendant le repos hivernal. (*Rev. gén. de Bot.*, **15**, 160 [1903].)

L'auteur s'occupe de la populine, cytisine, syringine, fraxinè, ligustrine, dulcamarine, ononine, conicine, saponine, convolvuline, des principes actifs du Muguet, de l'aconitine, des principes actifs de la Linaire vulgaire et de la Digitale pourpre. Il conclut que les principes actifs de la Jacinthe peuvent, comme les matières dites de réserve, être susceptibles d'une mise en dépôt pendant le repos de la végétation, soit dans les parties souterraines, soit dans la tige persistante, au voisinage des bourgeons.

SAWA (S.), Are coffein and antipyrin in high degree poisonous for plants? (*Bull. of the College of Agriculture, Tokyo, Imp. Univ.*, **4**, n° 5 [1901].)

Des solutions à 1 °/₀₀ de caféine ou d'antipyrine sont nuisibles aux plantes d'oignons, la caféine surtout.

SCHWARTZ (G.), Wirkung von Alkaloïden auf Pflanzen im Lichte und im Dunkeln. Inaugural Dissertation, Erlangen, 1897.

STRACKE (G.-J.), Onderzoekingen over de immuniteit van hoogere planten voor haar eigen vergift. Thèse doctorale, Amsterdam, 1904.

L'auteur a étudié la toxicité de plusieurs acides : HCl, l'acide oxalique, etc. Les alcaloïdes sont généralement peu toxiques pour les plantes supérieures; le chlorure de quinine est le plus toxique. Il conclut (p. 103) : « dat de weefselcellen der hoogere planten wel immuniteit voor haar eigen vergift kunnen bezitten, maar dat dit niet als algemeene regel geldt, verder dat deze cellen ook immuniteit kunnen vertoonen voor andere schadelijke stoffen, die met het vergift al of niet chemisch verwant kunnen zijn. » Il ne paraît pas indifférent pour la cellule qu'un poison y arrive de la vacuole ou du dehors.

De plus (p. 104), des changements survenus dans le suc exprimé peuvent rendre toxique un suc qui ne l'est pas.

VAN DIJCK (E.-B.), Phytochemische onderzoekingen over alkaloïden in verband met het kiemen. Thèse doctorale, Utrecht, 1900.

L'auteur s'occupe des alcaloïdes dans quelques graines de Solanées; il en observe dans l'albumen. Il étudie aussi les graines de : *Conium,* *Cytisus, Lupinus, Coffea* et *Cinchona*. Il se prononce contre la théorie des alcaloïdes comme défense et croit plutôt que ce sont des réserves azotées.

Varigny (H. de), L'atropine est-elle un engrais végétal? (*Rev. gén. de bot.*, **4**, 407 [1892].)

De Vries (Hugo), Plasmolytische Studien über die Wand der Vacuolen. (*Jahrb. f. wiss. Bot.*, **16**, 465 [1885].)

Sur la possibilité de trouver dans le suc cellulaire des substances nuisibles ou vénéneuses sans danger pour la plante, voy. p. 540.

Weevers (Th.) et Mme Weevers-De Graaff (C.-J.), Untersuchungen über einige Xanthin-Derivate in Beziehung zum Stoffwechsel der Pflanzen. (*Kon. Akad. v. Wetensch., Amsterdam*, 203 [1903].)

Les auteurs ont recherché si la caféine et la théobromine sont des produits intermédiaires ou ultimes du métabolisme. Les expériences ont été faites à Buitenzorg sur divers *Coffea, Thea* et *Theobroma*. Ils donnent ici les résultats de leurs recherches *qualitatives* et *microchimiques* (par le procédé Behrens : sublimation).

Les analyses montrent que ces deux dérivés xanthiques existent dans toutes les parties aériennes jeunes, même celles qui dérivent de parties vieilles; mais ces dérivés diminuent souvent de quantité pendant la croissance des organes et disparaissent des organes adultes : des feuilles de *Coffea stenophylla, Theobroma Cacao* et *Kola acuminata*, et des rameaux de ces espèces et de *Thea sinensis, Coffea liberica* et *Coffea arabica*. « Hierdurch wird die Annahme nahe gelegt, dass Caffeïn und Theobromin wieder am Stoffwechsel teilnehmen können. Eine nähere Untersuchung der Verhältnisse bestätigt diese Voraussetzung. »

Le *Kola acuminata* est surtout probant à cet égard : la caféine et la théobromine, abondantes dans la jeunesse, disparaissent complètement deux mois plus tard, et comme aucun organe n'est éliminé par la plante, il faut admettre que les dérivés xanthiques sont de nouveau utilisés dans la nutrition.

Chez *Thea, Coffea liberica* et *Theobroma*, les feuilles adultes renferment, il est vrai, beaucoup de caféine (et évidemment de théobromine), mais ces substances en ont disparu lorsqu'elles jaunissent et se préparent à tomber. Pour *Coffea arabica*, les auteurs ne peuvent encore se prononcer.

« Wenn wir jetzt in Betracht ziehen, dass die Blätter der Zweige, denen junge Sprosse oder Blüten ganz fehlen, dasselbe Verhalten zeigen, so können wir mit Sicherheit behaupten, dass die Xanthinderivaten wieder in den Stoffwechsel eintreten und daher, wenigstens im diesen Falle ein Zwischen- und kein Endprodukt sind. Dieser Schluss kann durch qualitative Bestimmungen unterstützt werden, aber diese sind nicht notwendig, um seine Richtigkeit zu beweisen. »

Dans les feuilles panachées de *Thea assamia,* les parties blanches contiennent notablement plus de caféine que les parties vertes.

Wotczal (E.), Das Schicksal und die Bedeutung des Solanins im Leben der Pflanzen. (*Arbeit. d. Naturf. Ver. zu Kazan*, **19**, 5 [1889].)

Yasuda (A.), On the effect of alcaloids upon some moulds. (*Bot. Magaz. Tokyo*, **15**, 172 [1901].)

L'auteur a cultivé *Aspergillus niger, Penicillium glaucum, Mucor stolonifer* et *Botrytis cinereus* dans une solution nutritive contenant du sucre de canne et du nitrate d'ammoniaque, additionnée de l'alcaloïde à essayer : chlorhydrate de morphine, strychnine, quinine, cocaïne, cinchonine, codéine et sulfate de vératrine.

Une quantité modérée d'alcaloïdes amène un développement plus vigoureux des Champignons, soit qu'ils servent de source d'azote en présence de substances minérales, soit qu'ils agissent comme excitant.

Quand la concentration du milieu de culture, quel qu'il soit, augmente, les conidiophores et sporangiophores se réduisent de plus en plus, mais les chlamydospores deviennent d'autant plus nombreuses. Il conclut : « The moulds generally grow better in the solutions which contain alcaloids than in the normal solution... »

« The weakest alcaloid for the fungi under consideration is the dichloride of morphine, while the strongest is that of cocaïne.

» Of the four fungi experimented upon, *Penicillium glaucum* offers the greatest resistance to alcaloids; then follow *Aspergillus niger* and *Botrytis cinereus.* Lastly *Mucor stolonifer* present the greatest susceptibility. »

IV. — ALCALOÏDES DANS LES DIVERS GROUPES DE VÉGÉTAUX.

Champignons, Lichens, Bactéries.

Beckurts (H.), Zur Werthbestimmung von *Secale cornutum.* (*Zeitschr. Oesterr. Apoth. Ver.*, **34**, 31 [1896].)

Charrin (A.), Variété d'origine, de nature et de propriétés des produits solubles actifs développés au cours d'une infection. (*Comptes rendus de l'Acad. des sc. Paris*, **138**, 433 [1904].)

L'auteur fait voir la multiplicité et la complexité des produits volatils ou stables, solubles ou insolubles dans l'alcool, alcaloïdiques ou diastasiques, d'origine microbienne, cellulaire ou mixte, qui naissent au cours d'une infection.

Fünfstück (M.), Lichenes. (Engler et Prantl, *Die natürlichen Pflanzenfamilien*, I, **1***, 19, 29, sqq.)

Données assez détaillées sur les substances, toxiques ou non, renfermées dans les Lichens.

Hartwich (C.), Du sclérote du *Molinia cærulea*. (*Bull. Soc. myc. France*, **11**, 138 [1895].)

Il est question des propriétés de la cornutine (ergotinine).

Harmsen (E.), Zur Toxikologie des Fliegenschwammes. (*Arch. f. exper. Path. und Pharm.*, **50**, 371 [1903].)

La Fausse-Oronge contient de la muscarine (0gr0133 à 0gr0118 pour 100 grammes de champignon frais); pas d'atropine ou de base analogue, mais renferme un deuxième poison, que l'alcool n'extrait pas, que l'eau extrait à moitié et que Harmsen appelle « Pilztoxine ». Ce poison, très fragile, diminuant notablement par la dessiccation, agit sur les centres nerveux.

Heinisch (W.) et Zellner (J.), Zur Chemie des Fliegenpilzes (*Amanita muscaria* L.). (*Anzeiger d. kais. Akad. d. Wiss. Mathem.-naturw. Klasse Wien*, **9**, 89 [1904].)

L'auteur ne s'occupe que des cendres et de l'extrait par l'éther de pétrole (corps gras, éryostérine).

Jacobj (C.), La sphacélotoxine et les substances extraites du Seigle ergoté. (*Journ. médical de Bruxelles*, **2**, 561.)

Jahn (E.), Ueber Giftpilze und Pilzgifte. (*Apotheker Zeitung*, **12**, 93 [1892].)

L'auteur résume ce qu'on sait sur les poisons des Champignons vénéneux : *Amanita, Tuber, Morchella.*

On peut rendre inoffensifs la plupart des Champignons vénéneux, par la cuisson.

Kobert, Ueber Pilzgifte. (*Chem. Centralbl.*, 1892, p. 929.)

Ptéridophytes.

Lohmann (C.-E.-J.), Ueber die Giftigkeit gewisser Equisetumarten. (*Jahrb. f. Landwirtschaft*, 397 [1902].)

L'auteur indique un alcaloïde, l'équisétine, chez divers *Equisetum*, surtout *Equisetum palustre.*

Graminacées.

Braunstein (A.-P.), Étude pharmaco-dynamique des stigmates de Maïs et de l'*Ustilago Maydis*, leur influence sur les contractions de la matrice. (*Journ. médical de Bruxelles*, **3**, 33 [1898].)

L'extrait des stigmates de Maïs produit un ralentissement des battements cardiaques avec augmentation de leur force. L'*Ustilago Maydis* a une action analogue à celle de l'Ergot du Seigle.

Freeman (E.), Symbiosis in the genus *Lolium.* (*Minnesota Bot. Studies*, **3**, 329 [1904].)

Freeman (E.), The Seed-fungus of *Lolium temulentum* L., the Darnel. (*Proceedings of the Royal Society*, **71** [1902].)

Le *Lolium temulentum* doit probablement sa toxicité aux hyphes que l'on trouve souvent extérieurement à la couche d'aleurone du grain.

Hanausek (T.-F.), Vorläufige Mittheilung über den von A. Vogl in der Frucht von *Lolium temulentum* entdeckten Pilz. (*Ber. deutsch. bot. Ges.*, **16**, 203 [1898].)

Lolium temulentum contient un Champignon auquel sont peut-être dues les propriétés toxiques attribuées à la « témuline ».

MARCHAL (ÉM.), Contribution à l'étude du Champignon du caryopse des *Lolium*. (*Bull. Soc. roy. de bot. de Belgique*, **41**, 61 [1902].)

L'auteur dit : « Pour Nestler et Guérin, le mycélium de *Lolium temulentum* serait la cause des propriétés enivrantes de cette espèce, de la même façon que le Seigle enivrant doit sa toxicité à un Champignon, l'*Endoconidium temulentum*.

Dans ces conditions, le Champignon interne fournirait à la Graminée un efficace moyen de protection. Mais sa présence, bien que rare, dans le *Lolium perenne*, espèce tout à fait inoffensive, fait planer un doute sur cette hypothèse. »

NESTLER (A.), Zur Kenntnis der Symbiose eines Pilzes mit dem Taumellolch. (*Sitzungsber. d. kais. Akad. d. Wissensch., Math.-nat. Klasse, Wien*, **113**, 529 [1904].)

L'auteur a trouvé le Champignon constant dans la graine de *Lolium temulentum*; tandis que chez *Lolium perenne* il a trouvé des hyphes dans quatorze graines sur cinquante. mais elles y sont moins développées que chez *Lolium temulentum*.

Chez *Lolium perenne*, il semble que le Champignon ait une action nuisible; chez *Lolium temulentum*, il y a une parfaite association et, à la germination, le Champignon pénètre dans tout le chaume.

Chez *Lolium italicum*, les choses se passent à peu près comme chez *Lolium perenne*.

Liliiflorales.

ALBO (GIAC.). Sur la signification physiologique de la colchicine dans les différentes espèces de *Colchicum* et de *Merendera*. (*Arch. des Sc. ph. et nat.*, **12** [sept. 1901].)

L'auteur a trouvé la colchicine dans un grand nombre de *Colchicum* et dans deux *Merendera*. Il prétend que l'alcaloïde se trouve *très probablement à l'état libre* dans les différentes parties de *Colchicum*. Il a localisé au moyen d'acide chlorhydrique ou d'acide sulfurique et d'acide tartrique. Il a trouvé, comme Maistriau, de la colchicine dans l'endosperme des graines de *Colchicum*. Il n'a pu obtenir de germination de celles-ci. Dans les bulbes, la colchicine suit le même sort que les substances de réserve, elle se transmet du bulbe vieux au bulbe jeune. Lorsque, vers le printemps, le bulbe vieux ne contient plus de colchicine ni d'autre substance de réserve, le bulbe jeune atteint son maximum de développement.

Dragendorff (G.), Die Heilpflanzen.

Alcaloïdes indiqués dans les Amaryllidacées : *Leucoium vernum :* leucojine et leucojitine; *Amaryllis Belladonna :* bellamarine; *Narcissus :* narcissine; *Sprekelia formosissima (=Amaryllis formosissima) :* amarylline et bellamarine.

Heim, Recherches médicales sur le genre *Paris*. Paris, J.-B. Baillière et fils, 1897.

Houdès (A.). De la colchicine cristallisée. (*Comptes rendus de l'Acad. des sc. Paris*, **98**, 1442 [1884].)

Jourdain, Narcissine. (*Buchner's Repertorium für Pharmacie* [2], **21**, 338 [1872].)

La narcissine se trouve dans plusieurs espèces de *Narcissus*. *Narcissus pseudo-narcissus* L. en renferme jusque 45 °/₀ dans les fleurs, jusqu'à 37 °/₀ dans les racines (à côté de gomme, tannin, huile essentielle et sels).

Substance émétique, blanche, transparente, presque sans odeur ni saveur, déliquescente, très soluble dans l'eau, soluble dans l'alcool et dans l'acide acétique.

Meyer (Art.), Ueber *Veratrum album* L. und *Veratrum nigrum* L. Biologie und Morphologie. (*Arch. d. Pharm.*, **220** [1882].)

Paschkis, Phylostérine chez *Colchicum*. (*Hoppe Seyler Zeitschr. f. allgem. Physiol.*, **8**, 356.)

Plugge et Schutte, Sur la dioscorine, alcaloïde toxique des tubercules de *Dioscorea hirsuta* (des Indes néerl.) (*Arch. intern. de pharmacodynamie*, **4**.)

Zeisel (S.), Ueber das Colchicin. (*Sitzungsber. der Wiener Akad.*, **96**, II, 1338 [1887].)

Orchidacées.

Mac Dougal (D. T.), Poisonous influence of various species of *Cypripedium*. (*Minnesota Bot. Studies, Bull.*, **9**, 450 [1895].)

Pipéracées.

Herlant (A.), L'analyse du poivre de Clusius. Contribution à l'étude des plantes utiles du Congo. (*Bull. de l'Acad. roy. de méd. de Belgique*, 1894.)

La pipérine se colore en jaune vif par l'hydrate de chloral en solution concentrée; la coloration est persistante, mais passe à l'orangé clair après vingt-quatre heures. Elle ne se produit ni avec la cubébine, ni avec l'essence, ni avec les résines des différents poivres. L'auteur en indique la localisation.

Urticales.

Haberlandt (G.), Beiträge zur Anatomie und Physiologie der pflanzlichen Brennhaare. (*Sitzb. Akad. Wien*, I. Abth., 1886, p. 223.)

Un fragment de tige d'*Urtica dioica* plongé de dix à vingt secondes dans l'eau bouillante présente dans le suc cellulaire des poils urticants une coagulation finement granuleuse, opaque, blanchâtre. Il donne les réactions des substances albuminoïdes (Eiweisskörper) : coloration rouge ou rouge brun par le réactif de Millon; pas de résultat net par le réactif de Raspail; mais dans les poils des plantes mises en automne dans la chambre, l'acide sulfurique produit une coloration rose vif. Le suc exprimé dans le sulfate de cuivre ou dans l'acétate de plomb donne un précipité jaune brun, épais, très finement granuleux. L'acide nitrique produit une coloration jaune du précipité produit par l'alcool ou par la cuisson. « Jodtinctur bewirkt eine gelbbraune Färbung. » Après divers essais, l'auteur conclut : « Vorläufig scheint mir also festzustehen, dass das entzündungerregende Gift der Brennhaare von *Urtica dioica* eine Substanz ist, welche sich in Bezug auf manche Eigenschaften den ungeformten Fermenten oder Enzymen anschliesst ».

D'après lui, la matière albuminoïde dissoute dans le suc n'était pas la substance toxique; l'acide formique non plus; le poison est « eine Substanz, welche gleich einem Enzyme durch Alkohol fällbar und in Wasser neuerdings löslich ist. Damit ist auch die Möglichkeit, dass ein Alkaloïd vorliege, ausgeschlossen ».

Humphrey (J.), The chemistry of *Cannabis indica*. (*Pharmaceutical Journ.*, fourth series, n° 1662, p. 363 [3 mai 1902].)

Ranales.

Ahrens (F. B.), Staphisagroin, ein neues Alkaloid. (*Ber. deutsch. chem. Ges.*, 1581 [1899].)

Detmer (W.), Manuel technique de physiologie végétale. (Trad. de l'allemand par Micheels). Paris, Reinwald, 1890.

Voir sur l'alcaloïde de *Berberis*, p. 262.

Laborde et Duquesnel, Des Aconits et de l'aconitine. Paris, Masson, 1883.

Mac Dougal (D. T.), A contribution to the physiology of the root-tubers of *Isopyrum biternatum* (Raf.) Torr. and Gray. (*Minnesota Botan. Studies*, 1896, p. 501.)

L'auteur indique dans les cellules épidermiques des tiges et des feuilles, dans l'endoderme et des quelques cellules corticales de l'*Isopyrum* une substance amère qui précipite en brun rouge par IKI, en blanchâtre par HgI_4K_2. La substance est soluble dans l'alcool. Il semble que l'alcool tartrique produise des sortes de sphérocristaux.

Meyer (Alb.), Beiträge zur vergleichenden Anatomie der Ranunculaceen. Inaugural Dissertation, Marburg.

Nestler (A.), Der anatomische Bau der Laubblätter der Helleboreen. (*Nova Acta Leop. Carol. Acad.*, **6** [1893].)

Pizzetti (Margherita), Sulla localizzazione dell' alcaloide nel *Nuphar luteum* Smith e nella *Nymphaea alba* L. (*Malpighia*, **18**, 106 [1904].)

L'auteur s'est servie seulement de l'IKI additionné d'un peu de carbonate d'ammoniaque et de l'alcool tartrique. Elle a obtenu par l'IKI ammonié une coloration rouge brun chez *Nuphar luteum* et une coloration rose plus claire chez *Nymphæa;* ces colorations disparaissent après quelque temps. L'auteur indique la localisation des alcaloïdes dans ces deux plantes, mais d'une façon un peu vague : *nei fasci,* etc.

Schroff (C.), *Aconitum lycoctonum* L. in pharmakognostisch-toxikologischer und historischer Hinsicht. Vienne, 1861.

Senft (E.), Ueber *Epimedium alpinum*. (*Pharm. Praxis*, **1**, 223.)

Rhéadales.

Adermann (F.), Beiträge zur Kenntniss der in der *Corydalis cava* Schw. und K. enthaltenen Alkaloïde. Inaugural Dissertation, Dorpat, 1890.

de Bary (A.), Vergleichende Anatomie der Vegetationsorgane der Phanerogamen und Farne. Leipzig, 1877.

La morphine se trouve sous forme de méconate dans les laticifères de *Papaver* (p. 192).

Battandier, Sur la présence de la fumarine dans une Papavéracée. (*Comptes rendus de l'Acad. des sc. Paris*, **114**, 1122 [1892].)

Cet alcaloïde se retrouverait dans *Glaucium corniculatum* var. *phoeniceum*.

Battandier, Les réactions de la chélidonine avec les phénols en solution d'acide sulfurique. (*Comptes rendus de l'Acad. des sc. Paris*, **120**, 270 [1896].)

Battandier, Sur l'histoire des alcaloïdes des Fumariacées et des Papavéracées. (*Comptes rendus de l'Acad. des sc. Paris*, **120**, 1276 [1895].)

Dobbie (J.) et Lauder (A.), On corydaline. (*Journ. Chem. Soc.*, 1892, p. 244.)

Dobbie (J.) et Lauder (A.), Corybulbine. (*Journ. Chem. Soc.*, June 1894.)

La corybulbine est un alcaloïde dans *Corydalis cava*.

Goebel (E.), Ueber Thebaïn. Inaugural Dissertation, Berlin, 1896.

Goldschmiedt (G.), Untersuchungen über Papaverin. (*Monatsschr. f. Chem.*, **6**, 372, 667, 954.)

Freund (M.) et Josephy (W.), Ueber die Alkaloïde, welche in der Wurzel von *Corydalis cava* (Schwgg.) enthalten sind. (*Chem. Centralbl.*, 1892, p. 418.)

Merck (E.), Alkaloïde aus *Corydalis cava*. (*Chem. Centralbl.*, 702 [1893].)

Michalowski (J.), Beiträge zur Anatomie und Entwickelungsgeschichte von *Papaver somniferum* L. Inaugural Dissertation, Grätz, 1881.

Perger, Ueber quantitative Bestimmung des Morphins im Opium. (*Journ. f. prakt. Chem.*, 1884.)

Plugge (P.-C.), Réaction de la narcéine. (*Ann. de la Soc. médico-chirurgicale de Liége*, **26**, 223 [1887].)

Schlotterbeck (J. O.), Chemistry of *Argemone mexicana*. (*Pharmaceutical Journ.*, 409 [1902].)

Cette plante contient de la berbérine et de la protopine (= argémonine).

Schlotterbeck (J. O.) et Watkins (H. C.), Beiträge zur Chemie des *Stylophorum diphyllum*. (*Ber. deutsch. chem. Ges.*, **35**, 7 [1902].)

Schroeder (W. V.), Untersuchung über die pharmakologische Gruppe des Morphins. (*Arch. f. exper. Pathol.*, **17**, 96, 144 [1883-1884].)

Sarracéniales.

Engler (A.), Syllabus der Pflanzenfamilien. Berlin, 1903.

Sarracenia purpurea contient l'alcaloïde sarracénine (p. 132).

Saxifraginées.

Bokorny (Th.), Zur Proteosomenbildung in den Blättern der Crassulaceen. (*Ber. deutsch. bot. Ges.*, **10**, 619 [1892].)

Légumineés.

Andemard (A.), Présence et localisation des alcaloïdes dans les organes floraux du *Spartium junceum*. (*Bull. Pharm.*, Montpellier, 1902, p. 40.)

Andemard (A.), Recherches sur la localisation des alcaloïdes dans les Genêts. Étude microchimique. Thèse pharmaceutique, Montpellier, 1902.

Battandier et Malosse (Th.), Sur un alcaloïde nouveau (rétamine). (*Comptes rendus de l'Acad. des sc. Paris*, **125**, 360 [1898].)

Berend (L.), Zur Kenntnis der in den Samen von *Lupinus luteus* enthaltenen Alkaloïde. Inaugural Dissertation, Marburg, 1897.

Freund (M.), Zur Kenntnis des Cytisins. (*Ber. deutsch. chem. Ges.*, **37**, 16 [1904].)

Freund (M.) et Friedmann (A.), Zur Kenntnis des Cytisins. (*Ber. deutsch. chem. Ges.*, **31**, 605 [1901].)

Guérin (P.), Recherches sur la localisation de l'anagyrine et de la cytisine. (*Bull. Soc. bot. France*, **42**, 428 [1895].)

L'auteur trouve les localisations habituelles; il étudie aussi les fleurs et les fruits. La culture à l'obscurité ne fait pas diminuer les alcaloïdes. Toutefois, Guérin est d'avis que ce sont plutôt des réserves que de simples déchets.

Guérin (P.), Recherches sur la localisation de l'anagyrine et de la cytisine. Thèse pharmaceutique, Paris, 1895.

HAGEN (M.), Ueber das Lupanin, ein Alkaloïd aus den Samen der blauen Lupine, *Lupinus angustifolius*. (*Ber. deutsch. chem. Ges.*, **14**, 709 [1885].)

KROCKER, Bestimmung der Quantität an Alkaloïden in verschiedenen Pflanzentheilen von gelber Lupine und Lupinenheu von gelber Lupine, welches Vergiftungserscheinungen bei Schafen veranlasste. (*Landwirthsch. Jahrbücher*, **9**, 27 [1880].)

MOUREU (CH.) et VALEUR (A.), Sur la spartéine; caractères généraux; action de quelques réducteurs. (*Comptes rendus de l'Acad. des sc. Paris*, **137**, 194 [1903].)

PERRÉDÈS (P. E. F.), The anatomy of the bark of *Robinia Pseud-Acacia*. (*The Wellcome Chemical Research Laboratories, London*, 1901.)

PERRÉDÈS (P. E. F), The anatomy of the stem of *Derris uliginosa* Benth. An Eastern fish-poison. (*The Wellcome Chemical Research Laboratories, London*, n° 33 [1903].)

POWER (F. B.), The chemistry of the bark of *Robinia Pseud-Acacia* L. (*The Wellcome Chemical Research Laboratories, London*, 1901.)

L'auteur s'occupe du « protéide toxique » la *robine;* de substances alcaloïdiques; de la syringénine et de l'acide syringique; du tannin.

POWER (F. B.), The chemistry of the stem of *Derris uliginosa* Benth. An Eastern fish-poison. (*The Wellcome Chemical Research Laboratories*, n° 34 [1903].)

RAUWERDA (A.), Voortgezette onderzoekingen voor het voorkomen van cytisine in verschillende Papilionaceae. (*Nederl. Tijdschr. voor Pharm.*, Dec. 1897.)

L'auteur a trouvé la cytisine, au moyen de la réaction de Van de Moer, chez plusieurs Papilionacées.

Géraniales.

Bocquillon (H.), Étude botanique et pharmacologique des Xanthoxylées. Paris, J.-B. Baillière et fils, 1902.

De Wildeman (E.), Notices sur des plantes utiles ou intéressantes de la flore du Congo. I. Bruxelles, Spineux et C^{ie}, 1903.

Le *Carapa Toulouconna* (Méliacées) contiendrait dans son limbe et dans son écorce un principe alcaloïdique analogue à celui des écorces de quinquina (pp. 57 et suiv.).

Geiger (H.), Beiträge zur pharmakognostischen und botanischen Kenntniss der Jaborandi-Blätter. Dissertation, Zürich, 1898.

Greshoff (M.), Over het alcaloïdgehalte van Coca op Java gekweekt. (*Verslag omtrent de staat 's Lands Plantentuin te Buitenzorg*, 1888, pp. 43 et 71.)

Kain (J.), Ueber die Senegawurzel. (*Pharm. Post*, **31**, n^{os} 29 et 30 [1898].)

Naylor (W. A. H.), Alcaloidal constituents of *Cascarilla*-Bark. (*Pharm. Journ.*, sér. IV, n° 1447 [1898].)

Pinner (A.) et Schwarz (R.), Ueber Pilocarpin. (*Ber. deutsch. chem. Ges.*, **35**, 192 [1902].)

Sapindales.

Moreau de Tours, Le Maté. (*Bull. Soc. études coloniales*, 148 [1903].)

L'alcaloïde du Maté (*Ilex paraguayensis*) est différent, paraît-il, de la caféine. On l'a nommé « matéine ». D'après l'auteur, le $HgCl_2$ et $HgCy_2$ servent surtout à distinguer ces deux alcaloïdes.

Malvales.

De Wildeman (E.), Notices sur des plantes utiles ou intéressantes de la flore du Congo. I. Bruxelles, Spineux et Cie, 1903.

Il y est parlé de l' « adansonine », trouvée par M. Lascelles Scott dans l'écorce de l'*Adansonia digitata*. Cette substance serait l'antagoniste de la strophanthine.

Pariétales.

Allen (A. H.), Versuche über die Alkaloïde des Thees. (*Chem. Centralbl.*, 63, II, 917 [1892].)

De Wildeman (E.), Notices sur des plantes utiles ou intéressantes de la flore du Congo. II. Bruxelles, Spineux et Cie, 1904.

L'auteur indique (p. 245) un alcaloïde dans les feuilles de *Carica papaya*, la « carpaïne ».

Kley (P.), Examen microchimique du thé et quelques observations sur la caféine. (*Recueil trav. chimiques des Pays-Bas et de la Belgique* [2], **5**, 344 [1901].)

Makino (K.), Ogasawara (K.) et Kellner (O.), Die Zusammensetzung der Theeblätter in verschiedenen Vegetationsstadien. (*Die Landw. Versuchsstat.*, **33**, 370 [1886].)

D'après les dosages des auteurs, il y a une diminution du pourcentage de caféine à mesure que les feuilles vieillissent. Ils regardent la caféine comme un produit de dédoublement des albuminoïdes, pouvant éventuellement servir à reformer des albuminoïdes.

Nestler (A.), Ein einfaches Verfahren des Nachweises von Thein und seine praktische Anwendung. (*Zeitschr. f. Untersuch. d. Nahrungs- und Genussm.*, **4**, 289 [1901].)

Nestler (A.), Der directe Nachweis des Cumarins und Theins durch Sublimation. (*Ber. deutsch. bot. Ges.*, **19**, 350 [1901].)

Nestler (A.), Nachweis von extrahirtem Thee durch Sublimation. (*Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- und Genussm.*, **5**, 245 [1902].)

Suzuki (U.), Contribution to the physiological knowledge of the Tea-plant. (*Bull. Coll. Agric. Tokyo*, **4**, n° 4 [1901].)

Il n'y a pas de théine dans les semences de thé, mais apparition de ce corps pendant la germination. Les feuilles en sont le siège principal. L'auteur considère la théine comme un produit de métabolisme régressif.

Suzuki (U.), On the localization of theine in the Tea leaves. (*Bull. Coll. Agric. Tokyo*, **4**, n° 4 [1901].)

Suzuki localise microchimiquement la théine dans l'épiderme au moyen de la formation de protéosomes dans une solution de théine à 0.5 °/₀ et au moyen de tanin à 3, 4 °/₀, suivi d'une solution diluée d'ammoniaque.

Opuntiales.

Lewin in Engler et Prantl, Die natürlichen Pflanzenfamilien III, 6ᴬ, p. 173.

D'après l'auteur, l'*Echinocactus Lewinii,* très voisin de l'*Echinocactus Williamsi,* contiendrait un poison analogue à la strychnine. Tout le reste de la famille ne contiendrait que des corps indifférents.

Ombellacées.

Ahrens (F.-B.), Ueber *Conium*-Alkaloïde. (*Ber. deutsch. chem. Ges.*, **35**, 1330 [1902].)

Il s'agit d'alcaloïdes qui accompagnent la coniine ordinaire.

Hoffmann, Zur Kenntnis der Coningruppe. (*Ber. deutsch. chem. Ges.*, **17**, 825 [1884]; **18**, 5, 109 [1885].)

Ladenburg (A.), Synthese der activen Coniine. (*Ber. deutsch. chem. Ges.*, **19**, 2578 [1886].)

L'auteur démontre (p. 2582) que la coniine naturelle est identique avec l'α-propylpipéridine dextrogyre qu'il obtient par synthèse. C'est (p. 2583) la première synthèse complète d'un alcaloïde.

Ladenburg et Adam, Ein neues Alkaloïd aus *Conium maculatum* (Pseudoconydrin). (*Ber. deutsch. chem. Ges.*, **24** [1891].)

Wolffenstein (B.), Ueber *Conium*-Alkaloïden. (*Ber. deutsch. chem. Ges.*, **28**, 302 [1895].)

Primulacées.

Kobert, Ueber Giftprimeln. (*Korrespondenzblatt des Allgem. Mecklenburg. Aerztevereins*, n° 213 [1900].)

Nestler (A.), Die hautreizende Wirkung der *Primula obconica* Hance und *Primula sinensis* Lindl. (*Ber. deutsch. bot. Ges.*, **18**, 189 [1900].)

Nestler (A.), Zur Kenntnis der hautreizenden Wirkung der *Primula obconica* Hance. (*Ber. deutsch. bot. Ges.*, **18**, 327 [1900].)

Nestler (A.), Das Secret der Drüsenhaare der Gattung *Primula* mit besonderer Berücksichtigung seiner hautreizenden Wirkung. (*Sitz. b. der Kais. Akad. d. Wiss. Wien*, **111**, 1. Jan. [1902].)

Contortales.

Boorsma (W.-G.), Sur un nouvel alcaloïde des feuilles de *Strychnos Nux Vomica* et de *Strychnos Triente*, la strychnicine. (*Bull. Inst. bot. Buitenzorg*, n° 14.)

Dewèvre (A.), Les *Strophanthus* du Congo. (*Journ. de Pharm. d'Anvers*, nov. 1894.)

Gerock (J. E.) et Bronnert (E.), Beiträge zur Anatomie des Stammes von *Strychnos Ignatii*. (*Arch. de Pharm.*, **129**, 565 [1891].)

Hartwich, Ueber der *Strophanthus*-Samen. (*Arch. de Pharm.*, **226**, 500 [1888].)

HARTWICH, Beiträge zur Kenntniss der *Strophantus* und einiger mit den selben verwandter Samen. (*Ibid.* [1892].)

ROSSOLL (A.), Beiträge zur Histochemie der Pflanzen. (*Sitzungsber. d. math. naturw. Kl. d. Wiener Akad.*, **89**, 137 [1884].)

La strychnine se colore d'une façon si intense en rouge violet par le bichromate de potasse et l'acide sulfurique, que cette réaction peut être utilisée pour la recherche microchimique. On la trouve en solution dans l'huile grasse, dans toutes les cellules de l'endosperme de *Strychnos Nux-Vomica* et de *Strychnos potatorum*.

SCOTT et BREBNER, Anatomy and histogeny of *Strychnos*. (*Annals of Botany*, **3**, 275 [1889].)

SEIBERLING (J. D.), Structure of *Gelsemium*. (*American Journ. of Pharm.*, **70**, n° 8 [1898].)

Borraginacées.

GREINER (K.), Ueber giftige Boragineen-Alkaloïde. (*Pharm. Zeit.*, **43**, n° 20 [1898].)

SCHLAGDENHAUFFEN et REEB, Note sur la racine et les semences de *Cynoglossa*. (*Journ. d. Pharm. von Elsass-Lothringen*, 286 [1891].)

Cette plante renferme un alcaloïde à réactions colorées très nettes.

Solaninées.

AHRENS (F.), Ueber das Mandragorin. (*Ber. deutsch. chem. Ges.*, **22**, 2159 [1889], et *Ber. schles. Ges.*, **66**, 162 [1888].)

BARGER (G.) et SHAW (V.), The chemical and physiological essay of Digitalis tinctures. (*The Wellcome Physiological Research Laboratories, London* [1904].)

Ils emploient (p. 2) la méthode de Keller pour la digitoxine, « the chief active constituent of Digitalis tincture ».

Mais par cette méthode assez grossière, la digitoxine contient encore 33 °/₀ d'impuretés (p. 10).

La seule méthode d'essai des teintures de Digitale digne de confiance est l'essai physiologique.

HESSE (O.), Chemistry of *Mandragora* root. (*Pharmac. Journ.*, 28 juin 1902, p. 550.)

HUNGER (F.), Physiologische onderzoekingen over Deli-Tabak. I. Colorimetrische zetmeel-bepalingen. (*Mededeel. uit 's Lands Plantentuin*, n° 66 [1903].)

ISTVANFFI (G.), A solanin és capsicin microchemiai reakczióriól. (*Pótfüzetek a Termeszettudományi Közlönyher, Budapest*, 1894, p. 235.)

ISTVANFFI (G.), A paprika hatóanyogának mikrochemiai kinnilatása. — Recherches sur la localisation de la substance active dans le piment. (*Termeszetrajzi Füzetek, Budapest*, **14**, 163 [1891].)

KASSNER (G.), Ueber das Vorkommen von Solanin in Kartoffeln. (*Deutsch. Landw. Presse*, 1887, n° 19.)

KOBERT, Lehrbuch der Intoxicationen, 1893.

> « Nach Froschversuchen (p. 668) wirken auch das künstlich dargestellte Methylkyanäthin sowie das Manain strychninartig. Letzteres Alkaloid stammt aus der Wurzel der *Franciscea uniflora* Poh. (= *Brunfelsia Hopeana* Benth. (Solanaceae) und ist wohl identisch mit Franciscein. »

KUNZ (H.), Ueber einige neue Bestandtheile der *Atropa Belladonna*. (*Arch. d. Pharm.*, **223**, 721 [1885].)

LEMATTRE (G.), Recherches expérimentales et chimiques sur les alcaloïdes de la famille des Solanées. (*Arch. de médecine*, 1865.)

MEYER (O.), Ueber Vergiftungen durch Kartoffeln. Ueber den Gehalt der Kartoffeln an Solanin und über die Bildung desselben während der Keimung. (*Arch. f. experim. Path. und Pharm.*, **36**, 361 [1895].)

MEYER (G.), Ueber Inhalt und Wachsthum der Topinambur-Knollen. (*Ber. deutsch. bot. Ges.*, **13**, 184 [1895].)

Paoletti (T.), Beiträge zur Kenntnis des anatomischen Baues von *Nicotiana tabacum*. Berlin, 1892.

Pictet (A.) et Rotschy (A.), Sur trois nouveaux alcaloïdes du Tabac (*Arch. sc. phys. et nat. Genève*, 1901, p. 209.)

Les auteurs ont découvert dans le jus de Tabac de Kentucky, à côté de la nicotine $C_{10}H_{14}N_2$:

1° Un alcaloïde liquide, $C_{10}H_{12}N_2$, la nicotéine;

2° Un alcaloïde solide, $C_{10}H_8N_2$, la nicotelline, et

3° Un alcaloïde gazeux, $C_{10}H_{14}N_2$, la nicotinine, isomère avec la nicotine.

Pinner (A.), Ueber Nicotin. (*Ber. deutsch. chem. Ges.*, **24**, 61, 1373 [1891]; **25**, 1428, 2807 [1892]; **26**, 292 [1893].)

Prunet (A.), Sur la constitution physiologique des tubercules de Pomme de terre dans ses rapports avec le développement des bourgeons. (*Comptes rendus de l'Acad. des sc. Paris*, **114**, n° 19 [1892].)

Raciborski (M.), Ueber die Keimung der Tabakssamen. (*Bull. Inst. bot. Buitenzorg*, n° 6 [1900].)

Rank (Alb.), Beitrag zum Bau der Solanaceenblätter. (*Mitth. aus dem Lab. f. Waarenk. a. d. Wiener Handels-Akad.*, 1883, p. 186.

Schaarschmidt (J.), Ueber die mikrochemische Reaktion des Solanin. (*Zeitschr f. wiss. Mikrosk. und mikrosk. Technik*, **1**, 61 [1884].)

Schmidt, Das Atropin, das Daturin und das Hyoscyamin. (*Ber. über d. Sitz. d. naturforsch. Ges. zu Halle*, 1880.)

Schütte (W.), Beiträge zur Kenntniss der Solanaceenalkaloïde. (*Arch. d. Pharm.*, **229**, 492 [1891].)

Süm-Jensen (J.), Beiträge zur botanischen und pharmakognostischen Kenntniss von *Hyoscyamus niger*. (*Bibliotheca Botanica*, Heft 51 [1901].)

THOMANN (J.), Ueber die Bedeutung des Atropins in *Datura*-Samen. (*Bot. Centralbl.*, **80**, 461 [1899].)

WEIL (R.), Die Entstehung des Solanins in den Kartoffeln als Product bacterieller Einwirkung. (*Archiv für Hygiene*, **38**, 227 [1900].)

Il y a de véritables épidémies de pommes de terre toxiques. La solanine se produit par action microbienne. Étude de treize espèces microbiennes de pommes de terre dont deux surtout engendrent la solanine. On peut le prouver en les cultivant sur des pommes de terre stérilisées. La solanine est décelée par l'action de l'acide sulfurique. Les microbes produisent la solanine aux dépens de la pomme de terre; en bouillon de Löffler, ils ne la produisent pas. Les épidémies toxiques sont donc dues à des maladies microbiennes de la pomme de terre.

Rubiales.

BEHRENS (H.), Sur l'examen microchimique de la quinine. (*Ann. École polytechnique Delft*, **8**, 72 [1894].)

BRUNNER (H.) et LEINS (H.), Zur quantitativen Trennung von Theobromin und Coffein. (*Schweiz. Wochenschrift für Chemie und Pharm.*, März 1893.)

KLEY (P.), Examen microchimique du thé et quelques observations sur la caféine. (*Recueil des travaux chimiques des Pays-Bas et de la Belgique* [2], **5**, 344 [1901].)

MEYER (G.), Beiträge zur Anatomie der auf Java cultivirten Cinchonen. (*Zeitschr. für Naturwiss.*, **72**, 64, 409 [1900].)

L'auteur donne l'anatomie de diverses écorces de *Cinchona* et fournit quelques données chimiques (p. 439).

RUSBY (H.), Production of *Cinchona*-bark and quinine in the East Indies. (*Journ. of the New York Bot. Gard.*, 1902, p. 51.)

Sanctis (G. de), Sull'esistenza della coniina nel *Sambucus nigra*. (*Gaz. chim. italiana*, 1895, p. 49.)

Schimper (A. F.W.), Anleitung zur mikroskopischen Untersuchung der Nahrungs- und Genussmittel. Jena, Gustav Fischer, 1886.

L'auteur dit : « Der mikroskopische Nachweis des Coffeïns in der Kaffeebohne ist nicht möglich » (p. 33).

Strasburger (E.), Das botanische Praktikum, 3ᵉ édition.

L'auteur traite de l'alcaloïde des Quinquinas (p. 666).

Van Gorkom (K. W.), Kina (publication du Musée colonial). Haarlem, 1896.

L'histoire, la culture et la composition des Quinquinas y sont traitées. Il y a des publications semblables du Musée colonial d'Haarlem sur : le Café, le Thé, le Cacao, la Vanille, le Tabac, les Épices, le Caoutchouc et la Gutta-Percha.

Campanulales.

Greshoff (M.), Echinopsine, eene nieuwe kristallyne plantenbasis. (*Versl. Kon. Akad. v. Wetensch.*, 1900, p. 688.)

Voir dans Annexe II la localisation de l'échinopsine, par E. Verschaffelt.

Lutz (L.), Localisation des principes actifs dans les Seneçons. (*Bull. Soc. bot. France*, **42**, 486, 618 [1895].)

Schaer, Ueber glykosid- und alkaloïdartige Reactionen bei gewissen relativ indifferenten Drogen (*Herba Cardui benedicti* und *Pasta guarana*). (*Arch. de Pharm.*, 1890, nº 6.)

Zander (R.), Die Milchsafthaare der Cichoriaceen. Eine anatomisch-physiologische Studie. (*Bibliotheca botanica*, Heft 37 [1896].)

GLYCOSIDES, TANNINS, ETC.

GÉNÉRALITÉS.

Baccarini (P.), Contributo alla conoscenza dell' apparecchio albuminoso-tannico delle Leguminose. (*Malpighia*, **7**, 255, 325, 537 [1892].)

Bay (J. C.), Material for a monograph on the tannoids, with special reference to vegetable physiology. (*Missouri Botanical Garden Report*, **5**, 61 [1894].)

Braemer (L.), Les tannoïdes, introduction critique à l'histoire physiologique des tannins et des principes immédiats végétaux qui leur sont chimiquement alliés. Toulouse, 1891.

Busse (W.), Beiträge zur Kenntniss der Morphologie und Jahresperiode der Weisstanne (*Abies alba* Mill.). (*Flora*, **77**, 113 [1893].)

L'auteur (p. 174) conclut : « Es treten im Vegetationskegel *(Abies alba)* drei, vorläufig als « Gerbstoffe » bezeichnete Körper auf, welche mit Ausnahme gewisser gemeinsamer chemischer Reactionen ein durchaus verschiedenes Verhalten zeigen ».

Kunz-Krause, Ueber ein natürliches System der Tannoïde. (*Schweiz. Wochenschrift f. Chemie u. Pharm.*, 1898.)

Rijn (J. J. L. van), Die Glykoside. Berlin, Borntraeger, 1900.

Schaer (E.), Ueber neuere Saponin-Stoffe. (*Vierteljahrsschrift d. Naturf. Ges. Zürich*, **46**, 1 [1901].)

Il y a dans beaucoup de plantes diverses saponines inégalement toxiques, souvent employées par les sauvages pour empoisonner les poissons. Leur formule générale est $C_nH_{2n-8}O_{10}$.

L'auteur indique les propriétés et réactions de ces saponines et des sapogénines. On ne connaît ni le mode de formation de ces substances dans les plantes, ni leur rôle.

SPATZIER (W.), Ueber das Auftreten und die physiologische Bedeutung des Myrosins in der Pflanze. (*Jahrb. f. wiss. Bot.*, **25**, 39 [1893].)

LOCALISATION.

BRAEMER (L.), Sur la localisation des principes actifs dans les Cucurbitacées. (*Comptes rendus de l'Acad. des sc. Paris*, **117**, 753 [1893].)

L'auteur localise la bryonine, la colocynthine et l'élatérine dans de longs éléments, intermédiaires entre les tubes criblés et les laticifères articulés.

CHEMINEAU (R.), Recherches microchimiques sur quelques glucosides. Tours, 1904.

L'auteur s'occupe de *Rubia* (p. 33), *Juglans* (pp. 57, 61) et de l'arbutine (p. 89).

Il y a un aperçu historique assez détaillé. Il recommande l'emploi de plasmolysants (pp. 28, 61, 95) pour concentrer les sucs dans les cellules avant l'action des réactifs.

DUNSTAN, The nature and origin of the poison of *Lotus arabicus*. (*Chem. News*, **81**, 301 [1900], et *Proceed. Roy. Society*, **67**, n° 437.)

Ce poison est un glucoside; un enzyme dédoublant l'accompagne.

FAUST (E.), Ueber das Acocantherin. (*Arch. f. exper. Path. und Pharm.*, **43**.)

Acocanthera abyssinia contient un glycoside $C_{32}H_{50}O_{12}$.

GOLDSCHMIEDT (G.) et **MOLISCH** (H.), Ueber das Scutellarin, einen neuen Körper bei *Scutellaria* und anderen Labiaten. (*Sitzber. d. Akad. d. Wiss. Wien*, **110** [1901].)

Les *Scutellaria* et d'autres Labiées renferment dans leurs tissus un corps cristallisable, jaune, $C_{21}H_{20}O_{12}$, qui se dédouble par SO_4H_2 en scutellaréine $C_{15}H_{10}O_6$ et en un corps non sucré.

Goris (A.), Recherches microchimiques sur quelques glucosides et quelques tannins végétaux. Paris, Joanin et C^ie^, 1903.

L'auteur commence par l'histoire assez complète des localisations d'alcaloïdes, glucosides et tannins. Il s'occupe de l'esculine et de l'acide esculitanique *(Aesculus hippocastanum* et *Pavia rubra),* de la fustine *(Rhus cotinus),* de la fraxine *(Fraxinus excelsior),* de la daphnine *(Daphne alpina),* de la salicine *(Salix alba)* et de la caféine *(Thea, Cola).*

Il insiste sur ce que les glucosides et les alcaloïdes seraient souvent combinés aux tannins.

L'esculine se trouve surtout dans l'épiderme, l'endoderme et la périphérie de la moelle de la tige, dans les poils, etc.; dans l'écorce; dans l'endoderme, le péricycle et le parenchyme libérien de la racine (pp. 123-124).

L'auteur ne pense pas que l'esculine et les autres corps qu'il a étudiés puissent être des réserves (pp. 124, 130); mais il n'ose se prononcer déjà en faveur de la théorie des déchets.

Guignard (L.), Sur la localisation dans les amandes et le Laurier-Cerise des principes qui fournissent l'acide cyanhydrique. (*Journ. de pharm. et de chimie*, 1890.)

L'auteur conclut comme suit (p. 22) : « Dans le cylindre central de la partie axile d'une amande, l'émulsine se trouve contenue dans le péricycle; dans les faisceaux des cotylédons, il en est de même, avec cette différence qu'on en trouve aussi une petite quantité dans l'endoderme; dans le Laurier-Cerise, le péricycle étant presque entièrement sclérifié, elle est localisée pour ainsi dire uniquement dans la gaine endodermique. »

Johannsen, Sur la localisation de l'émulsine dans les amandes. (*Ann. sc. nat.* [7], **6**, 118 [1887].)

L'auteur a fait des recherches macrochimiques soigneuses et conclut (p. 126) : « L'amygdaline et l'émulsine sont localisées dans des tissus différents. L'amygdaline (qu'on trouve seulement chez les amandes amères) est localisée dans le parenchyme des cotylédons et l'émulsine (qu'on trouve dans toutes les amandes) est localisée dans les parties axiles de l'embryon et dans les faisceaux libéro-ligneux des cotylédons. »

Kondakow (I.) et Schatz (N.), Untersuchung der Bestandtheile von Flores Kusso. (*Arch. d. Pharm.*, **237**, 481 [1899].)

Mayoux (M^{lle} A.), Recherches sur la production et la localisation du tannin chez les fruits comestibles fournis par la famille des Pomacées. (*Ann. de l'Univ. de Lyon*, **6**, 4 [1894].)

La partie qui borde les loges et la pelure semble renfermer à elle seule plus de tannin que les autres parties du fruit (p. 38).

Raciborski (M.), Ueber die Inhaltskörper der Myriophyllumtrichome. (*Ber. deutsch. bot. Ges.*, **11**, 348 [1893].)

Ritthausen (H.), Vicin ein Glycosid. (*Ber. deutsch. Chem. Ges.*, **29**, 2108 [1896].)

Tanret (Ch.), De la vincétoxine. (*Comptes rendus de l'Acad. des sc. Paris*, **100**, 277 [1885].)

La vincétoxine est un glucoside extrait du *Vincetoxicum*. Elle est précipitée, de même que les alcaloïdes, par le HgI_2, 2KI et IKI, mais seulement en présence d'un acide minéral ou de l'acide oxalique.

Russell (W.), Essai sur la localisation de la daphnine chez le *Daphne Laureola*. (*Rev. gén. de bot.*, **14**, 420 [1902].)

L'auteur localise cette substance au moyen de IKI, qui colore les cellules à daphnine en orange et rouge carmin; il obtient également la localisation à l'aide de Fe_2Cl_6, de SO_4Fe, de l'acide phosphomolybdique, de KHO, de SO_4H_2, etc. Il conclut (p. 426) : « La daphnine, dans les organes adultes, est localisée dans l'épiderme, les libers et les rayons ligneux des tiges et des feuilles; elle se montre en faible quantité dans les racines. La daphnine est toujours accompagnée de matières oléagineuses. »

Thome (O. W.), Ueber das Vorkommen des Amygdalins und des Emulsins in den bittern Mandeln. (*Bot. Zeit.*, **23**, 240 [1865].)

Zopf (W.), Ueber die Gerbstoff- und Anthocyanbehälter der Fumariaceen und einiger anderer Pflanzen. (*Bibliotheca botanica*, 1886.)

L'auteur indique (p. 13) dans le rhizome du *Corydalis cava* des idioblastes contenant une substance jaune qui donne par IKI « einen äusserst reichen rothbraunen, getrocknet sepiafarbenen Niederschlag; das

Filtrat ist dunkelweinrot ». Il considère le précipité comme dû à du tanin; la matière rouge en décoloration, comme dérivant de la matière colorante.

Il ne donne aucune preuve que le précipité soit réellement du tannin et semble ignorer qu'il existe un alcaloïde, la corydaline, précisément dans le rhizome du *C. cava.* Cet alcaloïde précipite en brun IKI, se colore en jaune par l'acide nitrique, etc.

SIGNIFICATION PHYSIOLOGIQUE.

Albo (G.), L'azione del tannino sulla germinazione e sullo sviluppo del *Solanum tuberosum.* (*Nuovo Giorn. bot. ital.*, **11**, 521 [1904].)

L'auteur coupe des Pommes de terre en fragments et les place dans des récipients contenant une solution aqueuse de tannin ($^1/_2$-2$^1/_2$ °/$_0$). La germination se fait lentement et mal; les tiges ont l'aspect de tiges étiolées. Par l'examen microchimique, il trouve peu de tannin dans les tissus. Il conclut (p.113) que le tannin a été utilisé comme aliment et transformé ultérieurement en amidon.

Brunstein (A.), Ueber Spaltungen von Glycosiden durch Schimmelpilze. (*Beih. z. bot. Centralbl.*, **10**, 1 [1901].)

Selon l'auteur, les moisissures dédoublent les glycosides, hors de leurs cellules (par des oxydases?), utilisent seulement le sucre et oxydent le résidu, sans jamais le manger, le transformant ordinairement en acides (par exemple acide salicylique) qui tuent bientôt l'organisme. Seul le cyanure de benzoyle provenant de l'amygdaline n'est pas toxique.

Fischer (A.), Glycose als Reservestoff der Laubhölzer. (*Bot. Zeit.*, **46**, 405 [1888].)

L'auteur indique dans beaucoup de membranes lignifiées et autres des substances qui réduisent CuO et qu'il croit être glycose ou glycosides.

Küstenmacher (M.), Beiträge zur Kenntniss der Gallenbildungen mit Berücksichtigung des Gerbstoffs. (*Jahrb. f. wiss. Bot.*, **26**, 82 [1894].)

Jorissen (A.), Recherches sur la germination des graines de Lin et des amandes douces. (*Bull. Acad. roy. Belg.* [3], **7**, n° 6 [1884].)

Krauss (G.), Grundlinien zu einer Physiologie des Gerbstoffs. Leipzig, 1889.

Puriewitsch (K.), Ueber die Spaltung der Glycoside durch die Schimmelpilze. (*Ber. deutsch. bot. Ges.*, **16**, 368 [1898].)

Salicine, arbutine, hespéridine, etc., nourrissent bien *Aspergillus niger*, mais celui-ci ne supporte pas les produits de dédoublement de l'hélicine (aldéhyde salicylique).

L'auteur s'occupe surtout des réactions de salicine, arbutine et hélicine.

Spatzier (W.), Ueber das Auftreten und die physiologische Bedeutung des Myrosins in der Pflanze. (*Jahrb. f. wiss. Bot.*, **25**, 39 [1893].)

Sperlich (A.), Beiträge zur Kenntniss der Inhaltsstoffe in den Saugorganen der grünen Rhinanthaceen. (*Beih. z. Bot. Centralbl.*, **11**, 437 [1902].)

D'après Volkart (p. 463), le glycoside rhinanthine ($C_{29}H_{52}O_{20}$) est une substance jaune d'or, soluble dans l'alcool, colorable par SO_4H_2 ou HCl en vert-bleu (= la chromogène de Molisch extraite des racines de *Pedicularis*).

Sperlich obtient la même substance dans les racines de *Lathraea*. Cette rhinanthine se dédouble par les acides en glycose et rhinanthogénine. Il en est de même pour les racines de *Melampyrum* et de *Tozzia* (p. 468).

Waage (Th.), Ueber das Vorkommen und die Rolle des Phloroglucins in der Pflanze. (*Ber. deutsch. bot. Ges.*, **8**, 250 [1890].)

LATEX ET LATICIFÈRES.

De Bary (A.), Vergleichende Anatomie der Vegetationsorgane der Phanerogamen und Farne. Leipzig, 1877.

Les laticifères dans les organes sécrétoires se remplacent mutuellement (pp. 143, 208, 209).

Col (A.), Sur l'existence de laticifères à contenu spécial dans les Fusains. (*Comptes rendus de l'Acad. des sc. Paris*, **132**, 1354 [1901].)

Ces cellules spéciales se trouvent dans le liber des *Evonymus*. Le contenu renferme une substance élastique qui se rapproche du caoutchouc et de la gutta-percha. Le contenu éclaire le champ noir entre nicols croisés; il s'agit bien du contenu et non de la membrane. Il s'agit donc de latex.

Chauveaud (G.), Recherches embryogéniques sur l'appareil laticifère des Euphorbiacées, Urticacées, Apocynées et Asclépiadées. (*Ann. sc. nat.* [7], **14**, 1 [1891].)

Gaucher (M.-L.), Du rôle des laticifères. (*Ann. sc. nat.* [8], **12**, 241 [1900].)

Gaucher (L.), Recherches anatomiques sur les Euphorbiacées. (*Ann. sc. nat.* [8], **15**, 161 [1902].)

Dans ce travail, il est question (p. 245) du latex constitué en majeure partie par du tannin. L'auteur indique aussi la présence de sphérocristaux de malate neutre de chaux, et considère (p. 249) le latex comme nutritif. Il s'occupe également de l'anatomie et décrit des tannifères et laticifères.

Heinricher (E.), Die Eiweissschläuche der Cruciferen und verwandte Elemente in der Rhoeadinen-Reihe. (*Mitth. a. d. bot. Inst. zu Graz*, **1**, 1, 213 [1886].)

Heinricher (E.), Vorläufige Mittheilung über die Schlauchzellen der Fumariaceen. (*Ber. deutsch. bot. Ges.*, **5**, 233 [1887].)

Heinricher (E.), Nochmals über die Schlauchzellen der Fumariaceen. (*Ber. deutsch. bot. Ges.*, **9**, 184 [1891].)

Léger (L.-J.), Sur la présence de laticifères chez les Fumariacées. (*Comptes rendus de l'Acad. des sc. Paris*, **111**, 843 [1890].)

Mohl (H.), Ueber den Milchsaft und seine Bewegung. (*Bot. Zeit.*, **1**, 553 [1843].)

Molisch (H.), Studien über den Milchsaft und Schleimsaft der Pflanzen. Jena, Fischer, 1901.

Parkin (J.), Some observations bearing on the function of latex. (*Annals of Botany*, **13**, 620 [1899].)

L'auteur a étudié à Ceylan surtout *Hevea brasiliensis* et *Castilloa elastica*, var.

Les latex de *Hevea* coagulent par de petites quantités d'acide, par $HgCl^2$; donc il s'agit du passage d'un albuminoïde de l'état soluble à l'état insoluble. Les latex contiennent généralement du sucre en proportions variables. Dans le latex du tronc de *Hevea*, il y a toujours de la saccharose, mais peut-être le sucre provient-il en partie des tissus blessés, ambiants.

Les bâtonnets d'amidon des laticifères d'*Euphorbia* et genres voisins persistent dans les feuilles tombées. Il ne semble donc pas que les laticifères fonctionnent comme des conducteurs d'amidon dans les plantes.

Chez *Hevea*, les incisions subséquentes fournissent plus de latex lorsque l'écorce a été blessée.

Parkin (J.), Observations on latex and its functions. (*Annals of Botany*, **15**, 193 [1900].)

Rendle (A. B.), On the vesicular vessels of the Onion. (*Annals of Botany*, **3**, 169 [1889].)

Schwendener (S. von), Einige Beobachtungen an Milchsaftgefässen. (*Sitzsber. d. kgl. preuss. Ak. d. Wiss. Berlin*, **14**, 8 [1885].)

L'auteur décrit les corpuscules de formes variées renfermés dans le latex des Euphorbes.

Vogl (A.), Beiträge zur Kenntniss der Milchsaftorgane der Pflanzen. (*Jahrb. f. wiss. Bot.*, **5**, 3 [1866].)

Warsow (G.), Systematisch-anatomische Untersuchungen der Blätter bei der Gattung *Acer*, mit besonderer Berücksichtigung der Milchsaftelemente. (*Beih. z. Bot. Centralbl.*, **15**, 493 [1903].)

Le latex renfermé dans les idioblastes est réfringent, colorable en jaune canari par l'iodure de potasse iodé.

Zander (R.), Die Milchsafthaare der Cichoriaceen. Eine anatomisch-physiologische Studie. (*Bibliotheca botanica*, 1896.)

New York Botanical Garden Library
3 5185 00280 2955